
PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA
MESTRADO EM MEDICINA/PEDIATRIA

**USO DA FITA REAGENTE (MULTISTIX®)
NA ANÁLISE DO LÍQUOR EM CRIANÇAS**

Simone Sudbrack
ssud@terra.com.br

**Dissertação de Mestrado apresentada à
Faculdade de Medicina da PUCRS para
obtenção do título de Mestre em
Saúde da Criança**

Orientador: Prof. Dr. Jefferson Pedro Piva

Porto Alegre, 2002

FICHA CATALOGRÁFICA**S943u Sudbrack, Simone**

Uso da fita reagente (Multistix®) na análise do líquido em crianças / Simone Sudbrack; orient. Jefferson Pedro Piva. Porto Alegre: PUCRS; 2006.

103f.: fig; tab.

Dissertação(Mestrado)–Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina. Mestrado em Pediatria.

1. MENINGITE/ diagnóstico 2. MENINGITE/ líquido céfalo-raquidiano. 3. FITAS REAGENTES. 4. CRIANÇA. 5. PRÉ-ESCOLAR. 6. LACTENTE. 7. RECÉM-NASCIDO. 8. PEDIATRIA. 9. ESTUDOS TRANSVERSAIS I. Jefferson Pedro Piva. II. Título.

C.D.D. 616.82

C.D.U. 616.831.9-07(043.3)

Rosária Maria Lúcia Prenna Geremia
Bibliotecária CRB10/196

Dedicatória

Dedico esta tese à minha família pelo estímulo e apoio dispensados comigo, em especial em memória de meu avô que sempre esteve em todos os momentos mais difíceis de minha vida.

Agradecimentos

Ao término desta Dissertação de Mestrado, posso afirmar que este empreendimento somente tornou-se viável em razão da participação direta ou indireta de um enorme contingente de pessoas. Analiso a importância do apoio das pessoas e do papel da estrutura familiar que é imprescindível na realização de grandes empreendimentos.

Assim, de forma alguma poderia encerrar este episódio sem o justo registro deste meu reconhecimento:

Ao **Prof. Dr. Jefferson Pedro Piva**, por sua orientação, sua crítica, sua postura profissional e especialmente, por sua amizade.

Ao **Prof. Dr. Pedro Celiny Ramos Garcia**, por sua disponibilidade e tempo dispensados nesta pesquisa.

Ao **Prof. Dr. Renato Machado Fiori**, por sua compreensão, estímulo e entusiasmo para com os alunos da Pós-Graduação em Pediatria do Hospital São Lucas da PUCRS.

Ao **Prof. e colega Izaías Ortiz Pinto**, pela revisão ortográfica e gramatical deste texto.

Ao **Prof. Dr. Délio Kipper, Prof. Paulo Einloft e Prof. Margareth Salerno**, responsáveis por grande parte de minha trajetória e formação profissional.

Ao **Prof. Mario Wagner**, pelo indispensável auxílio na análise estatística deste estudo.

Aos amigos **Fernando Rocha de Oliveira e Walmor Bittencourt Correa**, pelo auxílio dispensado na realização deste estudo

Ao meu companheiro, amigo e colega **Rafael Castilho Pinto**, pela paciência, carinho e apoio dispensados comigo nos momentos mais difíceis, além da revisão ortográfica e idéias que contribuíram no desenvolvimento deste estudo.

À minha **família**, que carinhosamente, me brinda com sua compreensão, estímulo e entusiasmo.

À **Pediatria do Hospital São Lucas da PUCRS**, minha família profissional, pelas facilidades oferecidas para a realização de projetos de pesquisa

Aos colegas do **Serviço de Emergência da PUCRS**, por sua compreensão e incentivo.

À **CAPES**, pelo auxílio prestado na realização desta tese de Mestrado por sua compreensão e incentivo.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE ABREVIATURAS	xiv
RESUMO	xvi
ABSTRACT	xviii
1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Meningite.....	1
1.2 Epidemiologia	2
1.2.1 Etnia.....	5
1.2.2 Fatores Sócio Econômicos	6
1.2.3 Tabagismo	6
1.2.4 Meningite Meningocócica	7
1.2.5 <i>Streptococcus Pneumoniae</i>	9
1.2.6 Meningite por <i>H. Influenzae</i>	10
1.3 Fisiopatogenia	12
1.3.1 Colonização	12
1.3.2 Invasão Meníngea	14
1.3.3 Multiplicação Bacteriana e Indução da Inflamação no Espaço Subaracnóideo.....	15
1.3.4 Lesão Neural	17

1.4 Líquido Cefalorraquidiano.....	19
1.4.1 Composição Química.....	20
1.4.2 Avaliação do Líquido Cefalorraquidiano na Meningite Bacteriana.....	22
1.4.2.1 Aspecto	23
1.4.2.2 Exame Citológico	24
1.4.2.3 Exame Bioquímico	25
1.4.2.4 Exame Bacterioscópico (Gram).....	27
1.4.2.5 Exame de Cultura do Líquor.....	28
1.4.2.6 Outras Técnicas Diagnósticas.....	28
2 OBJETIVOS.....	33
2.1 Geral	33
2.2 Específico	33
3 PACIENTES E MÉTODOS.....	34
3.1 Delineamento.....	34
3.2 Seleção da Amostra	34
3.3 Critérios de Inclusão.....	35
3.4 Critérios de Exclusão.....	35
3.5 Intervenção	35
3.6 Medidas e Instrumentos.....	37
3.7 Exame do Líquido Cefalorraquidiano	38
3.7.1 Laboratório	38

3.7.1.1 Exame Físico e Citológico.....	38
3.7.1.2 Glicose.....	40
3.7.1.3 Proteínas.....	41
3.7.1.4 Eritrócitos.....	42
3.7.2 Fita Reagente.....	42
3.8 Aspectos Éticos.....	46
3.9 Aspectos Estatísticos.....	47
3.10 Custos.....	55
4 RESULTADOS.....	56
4.1 Dados Gerais de Caracterização da Amostra.....	56
4.2 Análise Laboratorial do Líquido Cefalorraquidiano.....	57
4.3 Análise do Líquido Cefalorraquidiano Através da Fita Reagente.....	59
4.3.1 Celularidade.....	59
4.3.2 Proteínas.....	61
4.3.3 Glicose.....	62
4.4 Capacidade da Fita Reagente em Detectar Alterações Liquóricas de Pacientes com Meningite Bacteriana confirmada por Cultura.....	63
4.4.1 Análise Laboratorial.....	63
4.4.2 Análise com a Fita Reagente.....	63
4.5 Construção da Curva Roc (Receiver Operator Characteristic).....	64
5 DISCUSSÃO.....	68

5.1 Delineamento do Estudo	70
5.2 Amostra submetida ao Estudo	72
5.3 Resultados da Fita Reagente.....	74
5.3.1 Leucócitos	74
5.3.2 Proteínas	79
5.3.3 Glicose.....	81
6 CONCLUSÕES	83
7 BIBLIOGRAFIA.....	84
ANEXO	103

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Etiologia da meningite bacteriana em crianças maiores de 30 dias em três diferentes períodos (Children`s Hospital) 4
- Figura 2** - Fisiopatogenia da meningite bacteriana, retirado de Bacterial and Fungal Infections of the Central Nervous System de Lydia A. Shrier.. 18
- Figura 3** - Fita reagente Multistix® 46
- Figura 4** - Curva ROC para valores de CK no IAM..... 53
- Figura 5** - Curvas ROC para os questionários CAGE e MAST em pacientes idosos com e sem alcoolismo 54
- Figura 6** - Curva ROC dos valores de células para diagnóstico de meningite considerando ≥ 100 células 66
- Figura 7** - Curva ROC para os valores de células no diagnóstico de meningite com cultura positiva 67
-

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Etiologia da meningite bacteriana em três diferentes locais.....	5
Tabela 2 - Uso do exame bacterioscópico no diagnóstico de meningite bacteriana	27
Tabela 3 - Métodos diagnósticos para a detecção de microorganismos na meningite bacteriana	31
Tabela 4 - Variação do número de células presentes no líquido em crianças normais	39
Tabela 5 - Variação no número de proteínas presentes no líquido de crianças normais	42
Tabela 6 - Cálculo da sensibilidade e especificidade	49
Tabela 7 - Cálculo da sensibilidade e especificidade da CPK no IAM	50
Tabela 8 - Cálculo do valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) da CPK no IAM.....	51

Tabela 9 - Cálculo da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo	52
Tabela 10 - Características das 136 amostras de líquido cefalorraquidiano analisadas no estudo	58
Tabela 11 - Valores médios de proteína no líquido das 136 amostras através da análise laboratorial.....	58
Tabela 12 - Valores médios de glicose no líquido de 136 amostras através da análise laboratorial.....	59
Tabela 13 - Acurácia da fita reagente em detectar alterações na celularidade líquórica tendo como ponto de corte 10 células	60
Tabela 14 - Acurácia da fita reagente em detectar alterações na celularidade líquórica tendo como ponto de corte 100 células	61
Tabela 15 - Acurácia da fita reagente em determinar alterações nas proteínas líquóricas tendo um ponto de corte de 45 mg/dl.....	62
Tabela 16 - Acurácia da fita reagente em determinar alterações de glicose no líquido tendo um ponto de corte de 50 mg/dl.....	62

Tabela 17 - Pacientes com e sem doença segundo a presença de células na fita reagente..... 65

Tabela 18 - Valores de sensibilidade e especificidade para valores de células encontrados na fita reagente 65

LISTA DE ABREVIATURAS

ATB	Antibiótico
CIE	Contraímunoeletroforese
CPK	Creatinoquinase
CSF	Cerebrospinal fluid
DP	Desvio Padrão
ELISA	Ensaio imunoabsorvente ligado à enzimas
E. coli	Escherichia coli
Gram	Exame bacterioscópico
GLI-DH	Cinético UV Test Glicose
Gli-DH	Glicose- desidrogenase
H₂O	Água
H. influenzae	Haemophilus influenzae
HIC	Hipertensão intracraniana
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IgA	Imunoglobulina A
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
IL-10	Interleucina 10

K	Potássio
L. monocytogenes	Listeria monocytogene
MAST	Michigan Alcoholism Screening Test
MMPs	Matrix-Metalloproteinases
Na	Sódio
N. meningitidis	Neisseria meningitidis
NiH rate	Negativity in Health
PCR	Teste de cadeia polimerase
pCO₂	Pressão de Hidrogênio
PiD	Positivity in Disease
RIE	Radioimunoensaio
RN	Recém-nascido
S. agalactiae	Staphylococcus agala
Sem	Semanas
SNC	Sistema Nervoso Central
S. pneumoniae	Streptococcus pneumoniae
S.viridans	Streptococcus viridans
TN rate	The true negative rate
TNF alpha	Fator de necrose tumoral
TP	Tru positive rate
VPN	Valor preditivo negativo
VPP	Valor preditivo positivo

RESUMO

Introdução: A infecção do Sistema Nervoso Central é responsável por uma significativa causa de morbi-mortalidade, especialmente em pediatria. Entre 5 à 15% das crianças com meningite bacteriana morrem e 20 à 30% desenvolvem seqüelas neurológicas a longo prazo. O exame do líquido cefalorraquidiano é o teste de laboratório mais importante para o diagnóstico desta doença. A busca de outros testes rápidos têm sido desenvolvidos para o diagnóstico e tratamento precoces da meningite bacteriana. Desta forma, o emprego de fitas reagentes podem se tornar um recurso auxiliar no diagnóstico das infecções meníngeas, principalmente onde a dificuldade de obtenção de volume suficiente de líquido é capaz de impedir a realização do exame citobioquímico de rotina.

Objetivo: Avaliar a acurácia da fita reagente Multistix® na análise do líquido cefalorraquidiano em crianças.

Pacientes e Métodos: Cento e quarenta e seis amostras de líquido foram coletadas de crianças e adolescentes de 0 à 18 anos que realizaram o exame de punção lombar no Hospital São Lucas da PUCRS. Estas amostras foram submetidas ao teste da fita reagente Multistix® e posteriormante analisadas pelo laboratório para a detecção de células, proteínas e glicose no líquido. Calculou-se a sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo dos resultados da leitura da fita reagente.

Resultados: A fita reagente apresentou uma sensibilidade de 76% na detecção de mais de 100 células no líquido e uma especificidade de 96%. O valor preditivo positivo foi de 84% e o valor preditivo negativo 93% respectivamente. Uma

sensibilidade de 80% e especificidade de 81% foi encontrada quando se testou a fita para proteínas. Em relação à glicose a sensibilidade encontrada foi de 16% e a especificidade de 100%.

Conclusão: Os resultados da fita reagente obtiveram boa sensibilidade quanto ao número de células e proteínas, podendo ser utilizada como um recurso auxiliar no diagnóstico das infecções meningéas, principalmente em locais de poucos recursos.

ABSTRACT

Background: The Central Nervous System infection is responsible for a important cause of disease and mortality, especially in pediatrics. Five to 15% of children with bacterial meningitis die and 20% to 30% will develop neurologic disturb in the future. The analysis of cerebrospinal fluid (CSF) is the most important test for diagnose meningeal infections, even when a little amount of CSF is present.

Objectives: To assess the accuracy of the reagent strips to analyze cerebrospinal fluid in children.

Methods: One hundred forty six samples of CSF were collected from children and teenagers from 0 to 18 years-old who were submitted to a lumbar puncture in the Hospital São Lucas of PUCRS. The samples were analyzed in laboratorial tests and with reagent strips (Multistix®) to detect cells, glucose and proteins. The sensibility, specificity, positive predictive value and negative predictive value were calculated.

Results: The reagent strips show a sensibility of 76% and specificity of 96% to detect cells in the samples. The positive predictive value was 84% and the negative predictive was 93%. Sensibility of 80% and specificity of 81% was found to proteins. The glucose results were 16% of sensibility and 100% of specificity.

Conclusions: The reagent strips show good sensibility to detect cells and proteins in the CSF. It could be useful as an additional, cheap and quick diagnosis method to detect meningitis.

1-INTRODUÇÃO

1.1- Meningite

A meningite é o processo inflamatório das meninges e dos vasos cerebrais em resposta a um agente agressor, na maioria das vezes infeccioso. É a causa mais comum de febre associada a sinais e sintomas de doença no Sistema Nervoso Central (SNC) em crianças.¹

O comprometimento infeccioso do SNC e de suas membranas envoltórias pode ser agudo, particularmente por bactérias e vírus, ou crônico, quando produzidos por protozoários, espiroquetas, helmintos, fungos ou micobactérias². Em geral, vírus são muito mais comuns que bactérias, que são mais comuns que parasitas e fungos. *Mycoplasma pneumoniae* também pode causar infecção do SNC, embora seja difícil de mensurar sua contribuição.¹

Entre as infecções que acometem a criança, as do SNC são as de maior gravidade. As meningoencefalites bacterianas são mais frequentes e mais graves nas crianças do que nos adultos.³

O líquido cefalorraquidiano que circula no espaço subaracnóide é o melhor elemento para a pesquisa diagnóstica de meningite. Ele participa ativamente na resolução do processo infeccioso, seja facilitando o transporte de elementos imunitários sangüíneos às meninges e ao SNC, seja veiculando antimicrobianos administrados terapêuticamente ².

1.2- Epidemiologia:

Infecção do Sistema Nervoso Central é responsável por uma significativa causa de morbi-mortalidade, especialmente em pediatria. Entre 5 à 15% das crianças com meningite bacteriana morrem e 20 à 30% desenvolvem seqüelas neurológicas a longo prazo.⁴

Até a recente introdução da vacina contra o *Haemophilus influenzae* tipo b a incidência de meningite bacteriana vinha aumentando, principalmente devido à este agente e ao *Streptococcus pneumoniae* do grupo B.^{5,6} Um aumento da incidência no número de casos de meningite por *Haemophilus influenzae* foi documentado em um grande número de instituições até 1980, incluindo Boston Children's Hospital; Los Angeles Children's Hospital; Hospital for Sick Children, Toronto; Radcliffe Hospital em Oxford, Inglaterra; e Birmingham Children's Hospital também na Inglaterra.⁴

Em dezembro de 1987 uma vacina conjugada foi licenciada nos Estados Unidos para crianças a partir de 18 meses de idade e, em outubro de 1990, esta vacina foi aprovada para crianças com 2 meses de idade. Devido a isto, nos últimos 15 anos,

alterações significativas têm mudado a epidemiologia desta doença. A mais drástica é o desaparecimento da meningite e de outras formas de doença invasiva decorrentes da infecção pelo *Haemophilus influenzae* tipo b em locais onde programas de imunizações contra esta doença tem sido implementadas. A incidência de meningite bacteriana tem diminuído em 50% após a introdução destes programas de vacinação e até têm trazido modificações na idade de acometimento por esta doença. A maioria dos casos de meningite bacteriana hoje ocorre em adultos. Em menos de uma década a média de idade aumentou de 15 meses em 1986 para 25 anos em 1995, aumentando a proporção de casos entre os adolescentes de 20,8% para 51,5%.⁷

Previamente ao desenvolvimento desta vacina a incidência de *Haemophilus influenzae* tipo b nos Estados Unidos, em crianças menores de 5 anos de idade, variava de 32 à 71 casos por 100.000 crianças por ano.^{8,9} Nos primeiros 5 anos do programa de vacinação este número foi reduzido de 30 casos por 100.000 crianças em 1986 para 0 casos em 1991.⁴ A rápida demonstração de eficácia da vacina contra o *Haemophilus influenzae* tipo b tem levado muitos pesquisadores a desenvolver estudos epidemiológicos de dois outros patógenos causadores de meningite bacteriana que são o *Pneumococcus* e o *Meningococcus* com o objetivo de criar novas vacinas contra estas bactérias.⁷

A figura abaixo demonstra a alteração epidemiológica da meningite bacteriana em crianças acima de 30 dias de vida no período de 1981 à 1995 em uma revisão realizada por Katherine em 1999.¹⁰

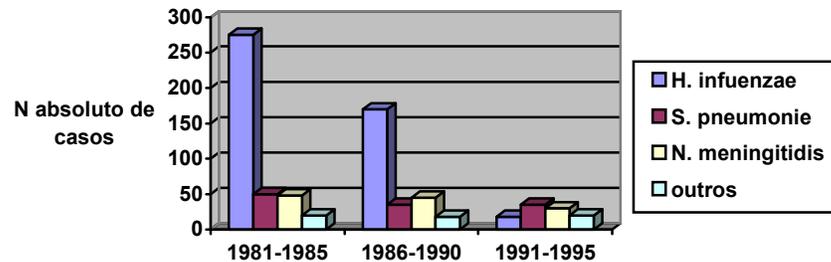


Figura 1 - 382 casos de meningite bacteriana em crianças acima de 30 dias de vida em três diferentes períodos em Children's Hospital in Seattle

Podemos observar que existe uma diferença significativa ($p < 0,001$) na distribuição dos principais patógenos causadores de meningite bacteriana em crianças, na figura acima. Houve um declínio do número de casos de meningite bacteriana ocasionadas pelo *Haemophilus influenzae* no terceiro período (1991-1995) e o *Streptococcus* foi o patógeno mais comum neste período.

Esta doença também representa um problema importante em outras áreas do mundo.¹¹ No Brasil, em Salvador, realizou-se um estudo no Hospital Couta Maia no qual foram revisados 4100 casos de meningite bacteriana no período de 1973 à 1988, demonstrando índice de 45,8 casos de meningite para cada 100.000 pessoas. *Haemophilus influenzae*, *Neisseria meningitidis*, e *Streptococcus pneumoniae* foram responsáveis por 62% dos casos de meningite, conforme tabela abaixo:

Tabela 1- Etiologia da meningite bacteriana em três diferentes locais

Agentes	United-Kingdom (1980-1984)	Dakar, Senegal (1970-1979)	Salvador, Brasil (1973-1982)
<i>H. influenzae</i>	29	20	23
<i>N.meningitidis</i>	25	11	22
<i>S. pneumoniae</i>	20	29	17
<i>S. agalactiae</i>	7	4	–
<i>L.monocitogenes</i>	2	<0,5	–
Outros	16	9	20
Não conhecido	–	26	18

Modificado de Etiology and mortality of bacterial meningitis in northeastern Brazil, Infect Dis 1990¹¹

No Rio Grande do Sul, a incidência de meningite por *H. influenzae* também diminuiu a partir de 1999, ano em que a vacinação contra este agente foi instituída em toda rede pública. Em 1997, ela era de 1,3/100.000 e em 1999 atingiu 0,8/100.000. Quando são analisados os dados referentes ao ano de 2000, a sua incidência diminuiu para 0,4/100.000, demonstrando o efeito deste esquema vacinal sobre a população.¹²

1.2.1-Etnia

A incidência de meningite por *Pneumococcus* e *H. influenzae* é muito mais comum entre africanos, americanos de origem africana, índios americanos e índios australianos.^{13,14,15} Embora a ocorrência de anemia falciforme esteja relacionada com o

aumento da suscetibilidade à doença invasiva entre os africanos e americanos de origem africana, desconhecem-se as razões pelas quais os outros grupos são também mais afetados. Talvez diferenças na resposta imunitária aos polissacarídeos capsulares das bactérias desempenhem um papel importante, mas as condições sócio-econômicas são as principais responsáveis.¹⁶

1.2.2-Fatores socio-econômicos

As condições socio-econômicas têm importante impacto na incidência e distribuição das meningites. Pobreza, aglomerados de pessoas, acesso limitado à saúde e baixo nível de educação estão relacionados com o aumento da incidência.¹⁷ Estes fatores são tão importantes que as diferenças na incidência entre brancos e pretos desaparece quando corrigidas as diferenças socio-econômicas.¹⁸

1.2.3- Tabagismo

Recentemente a exposição ao tabagismo tem demonstrado aumento do risco para desenvolver meningite bacteriana.^{19,20} Estudos de caso-controles têm demonstrado que fumo tem um risco aumentado para o desenvolvimento de meningite e, que entre os tabagistas, encontra-se o maior número de portadores de *H. influenzae*, *pneumococcus* e *meningococcus* na via aérea.^{20,21,22}

1.2.4- Meningite meningocócica

Neisseria meningitidis é uma bactéria gram-negativa, encapsulada que apresenta-se aos pares no exame bacterioscópico. Embora existam vários sorogrupos de acordo com a composição da cápsula bacteriana, os sorotipos A, B, C são os que causam doença em seres humanos e são responsáveis por mais de 90% dos casos de doença invasiva.^{23,24}

Meningite meningocócica pode ser esporádica ou ocorrer em epidemias. Epidemias usualmente são causadas pelos sorogrupos A e C enquanto que a doença não epidêmica pelo grupo B. O sorogrupo A raramente é responsável por doença nos Estados Unidos mas é o responsável pelas epidemias de doença na África e Ásia. Recentemente outro sorogrupo Y, tem sido identificado como causa de doença em diferentes regiões.^{23, 25}

Nos Estados Unidos, meningite meningocócica ocorre em 6 casos para cada um milhão de pessoas por ano e é responsável por 25% de todos os casos de meningite bacteriana. Sua mortalidade é em torno de 3%.²⁶ Geralmente ocorre a colonização da nasofaringe pela *N. meningitidis* sem sintomas associados e após a transmissão de pessoa para pessoa através de secreções respiratórias.

Diferente da *L. monocytogenes* e do *Streptococcus* do grupo B, a transmissão da doença meningocócica da mãe para o feto por via genital ou hematogênica não ocorre, por isso, que é raro o recém nascido apresentar esta doença. Por outro lado, crianças de 1 à 23 meses têm um alto índice de meningite meningocócica, cerca de 45 casos para cada 1 milhão de pessoas por ano.²⁶

N. Meningitidis é responsável por 60% dos casos de meningite bacteriana entre pessoas de 2 à 18 anos de idade, diminuindo esta proporção para 20% entre 19 à 59 anos de idade e menos de 5% acima de 60 anos de idade.²⁶ Atualmente são comuns grupos de adolescentes com doença meningocócica na Europa, Estados Unidos e Canadá secundários a um novo sorotipo C:2a, devido ao contato em universidades, bares e escolas.^{27,28,29}

A apresentação da doença meningocócica é sazonal com um pico de apresentação no final do inverno e início da primavera. Doença meningocócica é mais prevalente em áreas urbanas e em pacientes com deficiências de complemento (C5, C8 e C9).⁴ Esplenectomizados também têm um risco maior de desenvolver a doença.

A meningite meningocócica geralmente apresenta-se com sintomas típicos de febre, dor de cabeça e meningismo. Ela pode ser agressiva e matar em horas e os pacientes freqüentemente desenvolvem petéquias no tronco e membros inferiores que podem coalescer formando grandes lesões purpúricas. Complicações de doença meningocócica incluem lesões cutâneas, amputações, perda auditiva e lesão renal.³⁰

Portadores da doença (presença da *N. meningitidis* na nasofaringe) ocorrem em 1% à 15% dos adultos. A probabilidade de doença meningocócica severa em contatos da família é de 1% que é 1000 vezes maior que o risco da comunidade em geral. Crianças que mantêm contato com doença meningocócica dentro de um hospital têm um risco de 1:1000 de doença.^{1,4}

1.2.5- *Streptococcus pneumoniae*:

O *S. pneumoniae* consiste de um coco gram-positivo que apresenta-se aos pares ou em “corrente” no exame bacterioscópico. Muitos deles apresentam uma cápsula externa composta por oligossacarídeos que protegem estes microorganismos da fagocitose.³¹ Diferenças na composição da cápsula bacteriana são as responsáveis por mais de 80 sorotipos conhecidos.³²

A superfície nasofaríngea é o sítio primário da colonização do *pneumococcus* e mais de um sorotipo pode ser encontrado no portador da bactéria. Cerca de 5% à 10% de adultos sadios são colonizados pelo *pneumococcus* e 20% à 40% das crianças apresentam pelo menos um sorotipo na nasofaringe.³³ A colonização pode persistir por semanas à meses e a transmissão dá-se por contato entre pessoas através de secreções respiratórias. Ocorre um risco maior de transmissão em locais superpopulosos como creches, escolas, prisões, acampamentos militares, etc.^{34,35}

Atualmente o *pneumococcus* é o agente etiológico mais freqüente observado nos Estados Unidos como causador de meningite bacteriana. Ele é responsável por 47% do total de casos.³⁶ O índice de mortalidade varia de 19% à 26%. Dos 83 sorotipos de *pneumococcus* conhecidos, 18 são responsáveis por 82% dos casos de meningite.³² Nos Estados Unidos a incidência de doença é de 11 casos para cada um milhão de pessoas por ano. Recém nascidos têm uma incidência maior de doença, cerca de 157 casos por um milhão de pessoas por ano.^{26,36}

Pacientes que desenvolvem meningite freqüentemente têm focos contíguos às meninges ou à distância de infecção pelo *pneumococcus* tais como pneumonia, otite

média, mastoidite, sinusite ou endocardite. Esplenectomia, hipogamaglobulinemia, desnutrição, doença crônica e fratura de base de crânio constituem fatores de risco aumentado para desenvolver esta doença.¹

A apresentação clínica é semelhante às outras meningites piogênicas, com exceção da pneumonia pneumocócica que freqüentemente é concomitante a esta patologia. Estudos retrospectivos mostraram que indivíduos infectados com *S. pneumoniae* sensíveis à penicilina apresentam sinais clínicos semelhantes à pacientes com *S. pneumoniae* resistentes à penicilina.^{37,38}

1.2.6- Meningite por *H. influenzae*:

H. influenzae é um pequeno cocobacilo gram-negativo que pode apresentar superfície capsular ou não. Os microorganismos que apresentam cápsula são responsáveis pelo desenvolvimento de meningite em humanos. De acordo com a composição capsular existem 6 sorotipos identificados por pesquisadores, sendo que mais de 95% das meningites são causadas pelo *H. influenzae* tipo b.^{39,40}

A transmissão é feita pelo contato entre pessoas através de secreções respiratórias, por isso que crianças que freqüentam creches e escolas têm um risco aumentado em desenvolver a doença.^{34, 41}

Previamente ao desenvolvimento da vacina conjugada contra o *H. influenzae* nos Estados Unidos, aproximadamente 1 a cada 200 crianças abaixo de 5 anos de idade desenvolvia doença invasiva por este patógeno e o pico de incidência

variava entre 6 e 15 meses. Cerca de 20% à 30% dos casos desenvolviam seqüelas neurológicas permanentes.^{42,43,44}

Após o desenvolvimento da vacina conjugada em 1990, a incidência de doença pelo *H. influenzae* diminuiu em 90% nas crianças abaixo de 5 anos de idade.^{36,45,46,47} Esta alteração na epidemiologia da doença não se repetiu em crianças acima de 5 anos de idade.⁴⁵

Estudos mais recentes evidenciaram que em 1995, crianças de 1 à 23 meses de idade apresentaram uma incidência aumentada de meningite por *H. influenzae*, cerca de 7 casos para 1 milhão de pessoas. Em 1996 e 1997 o índice de doença em crianças abaixo de 5 anos de idade variou conforme a raça. Brancos apresentaram uma incidência de 5 casos para 1 milhão de pessoas, asiáticos e habitantes de ilhas no pacífico 6 casos para cada 1 milhão de pessoas, pretos 7 casos, hispânicos 7 casos, índios americanos e nativos do Alaska 124 casos.²⁶ A alta incidência entre índios americanos e nativos do Alaska pode ser explicada: pela diminuição natural dos níveis de anticorpos quando comparado aos brancos, pela resposta ruim à imunização, pela má nutrição devido às baixas condições sócio- econômicas.⁴⁷

A apresentação clínica da meningite por *H. influenzae* é semelhante às outras meningites piogênicas, podendo apresentar-se por um quadro muito grave, fulminante. O índice de mortalidade atualmente é em torno de 6%.²⁶

1.3- Fisiopatogenia

Em 1948, Adams e colaboradores já descreveram as alterações patológicas da meningite.⁴⁸ Embora muitos casos não foram tratados adequadamente, estas descrições foram confirmadas por estudos realizados posteriormente quando utilizados tratamento adequados.

O mecanismo e a via pela qual a bactéria produz meningite não estão ainda totalmente esclarecidos. O SNC (Sistema Nervoso Central) possui um mecanismo protetor contra agentes patogênicos invasivos, composto pela caixa craniana, meninges e por um complexo mecanismo, que se interpõe entre o sangue e o líquido (barreira hematoliquórica). O desenvolvimento da doença dá-se através das seguintes etapas: invasão bacteriana do hospedeiro com conseqüente infecção do SNC; multiplicação bacteriana e desenvolvimento de inflamação dos espaços subaracnóideo e ventricular; progressão da inflamação com alterações fisiopatológicas e desenvolvimento de lesão neuronal.⁴⁹ A infecção pode atingir o SNC através da propagação sanguínea (bacteremia ou septicemia), de infecções adjacentes às meninges (faringite, sinusite, mastoidite, otite média aguda, etc.) ou por solução de continuidade.⁵⁰

1.3.1-Colonização:

Acredita-se que o mais comum seja a colonização na superfície da mucosa respiratória por um agente causador de meningite com posterior disseminação hematogênica. Muitos patógenos são transmitidos através da via respiratória e o

hospedeiro com seus mecanismos protetores na mucosa tentará impedir a entrada e multiplicação destes microorganismos através do epitélio mucociliar e da imunoglobulina IgA encontrada na secreção respiratória. O epitélio removerá as partículas encontradas na mucosa para fora do aparelho respiratório inibindo a adesão da bactéria.⁵¹ A integridade da mucosa nasal é um importante determinante da suscetibilidade do hospedeiro para o desenvolvimento de invasão bacteriana. Infecção viral da via respiratória com a perda dos mecanismos de defesa do hospedeiro é associado com um aumento do risco de doença invasiva. O desenvolvimento da meningite dependerá do equilíbrio entre a virulência da bactéria e os mecanismos de defesa do hospedeiro.⁵¹

A grande maioria das bactérias possuem características em sua superfície que ajudam na colonização da mucosa, como por exemplo as fímbrias da *N. meningitidis* e do *H. influenzae* que facilitam a adesão desta bactéria à mucosa nasal. Além disso estes germes produzem IgA proteases que fazem a clivagem das IgA secretoras na superfície da mucosa facilitando a sua entrada para a corrente sanguínea. A superfície encapsulada das bactérias pode também ser um importante fator de virulência tanto para a colonização da mucosa quanto para a invasão sistêmica dos patógenos que causam meningite. Em um trabalho realizado por Smith e colaboradores, observou-se que entre seis tipos de *H. influenzae* tipo b encapsulados, menos de 5% colonizaram a mucosa nasal, mas mais de 95% causaram doença sistêmica. Alguns tipos de cápsulas de polissacarídeos são associadas com um risco maior de desenvolvimento de meningite, como por exemplo, a *E. coli* K1 que é responsável por 84% das meningites neonatais.^{52,53} Acredita-se que estas bactérias podem reduzir a resposta do

sistema complemento do hospedeiro por apresentar uma constituição semelhante à superfície das células do hospedeiro interferindo com o processo de opsonização dos fagócitos e aumentando a virulência delas.⁵⁴

O sistema complemento é um importante e essencial mecanismo de defesa do hospedeiro que é ativado pela presença de bactéria na corrente sanguínea evitando, com isso, a forma de doença invasiva causada pelo *S. pneumoniae*, *H. influenzae* e *N. meningitidis*. Pacientes que apresentam falha no sistema complemento como ocorre na anemia falciforme ou que realizaram esplenectomia têm uma predisposição aumentada em desenvolver meningite.⁵⁵

1.3.2-Invasão Meníngea:

A barreira hematoencefálica mantém a homeostase do SNC através da restrição da entrada de macromoléculas, células e patógenos em seu interior. O mecanismo pelo qual a bactéria entra no SNC permanece desconhecido. O desenvolvimento de bacteremia sustentada tem sido sugerido como um importante fator, entretanto este não pode ser o único mecanismo responsável pela invasão meníngea porque o *S. viridans* que produz uma bacteremia sustentada durante uma endocardite bacteriana raramente produz esta doença.

Acredita-se que o mais importante fator para que a bactéria entre no SNC é a lesão das células endoteliais facilitada pela presença de receptores para bactérias presentes no endotélio do plexo coróide e dos capilares cerebrais.⁵⁶ As etapas percorridas pelos patógenos meníngeos são: quebra das conexões endoteliais,

transporte transcelular por processo ativo ou passivo e invasão do SNC. O alto fluxo sanguíneo no plexo coróide (200ml/min) contribui para a invasão bacteriana neste local.

Já existem estudos que identificam proteínas de superfície responsáveis pela invasão bacteriana da *E. coli* no endotélio celular, assim como do *S. pneumoniae*.⁵¹

1.3.3- Multiplicação bacteriana e indução da inflamação no espaço subaracnóideo

As bactérias podem se multiplicar mais facilmente no espaço subaracnóideo porque os mecanismos de defesa do hospedeiro são muito mais precários neste local. As imunoglobulinas, os neutrófilos e os componentes do complemento estão, na grande maioria das vezes, ausentes ou muito diminuídos, prejudicando a opsonização das bactérias e uma eficiente fagocitose.⁵⁵

Em resposta à multiplicação bacteriana, as células do SNC produzem citocinas e outros mediadores inflamatórios que contribuem para as alterações fisiopatológicas da meningite bacteriana e para a significativa morbi-mortalidade desta doença. O fator de necrose tumoral (TNF-alpha) e a interleucina 1 (IL-1) agem sinergicamente ou isoladamente no SNC, provocando alterações na permeabilidade da barreira hematoencefálica, alterações no metabolismo cerebral, diminuição do fluxo sanguíneo cerebral, inflamação e morte neuronal.^{57,58} Elas também induzem a formação de outras citocinas tais como a IL-6, IL-8, e IL-10. A IL-6 que são potentes indutores de leucócitos, ativadores do complemento e da cascata de coagulação e a IL-8 promove a adesão dos neutrófilos nas células endoteliais, que é um pré-requisito para a invasão

destes no SNC. Várias outras citocinas estão presentes no SNC durante a meningite bacteriana e elas contribuem na formação, intensidade e manutenção da resposta inflamatória.^{60,61}

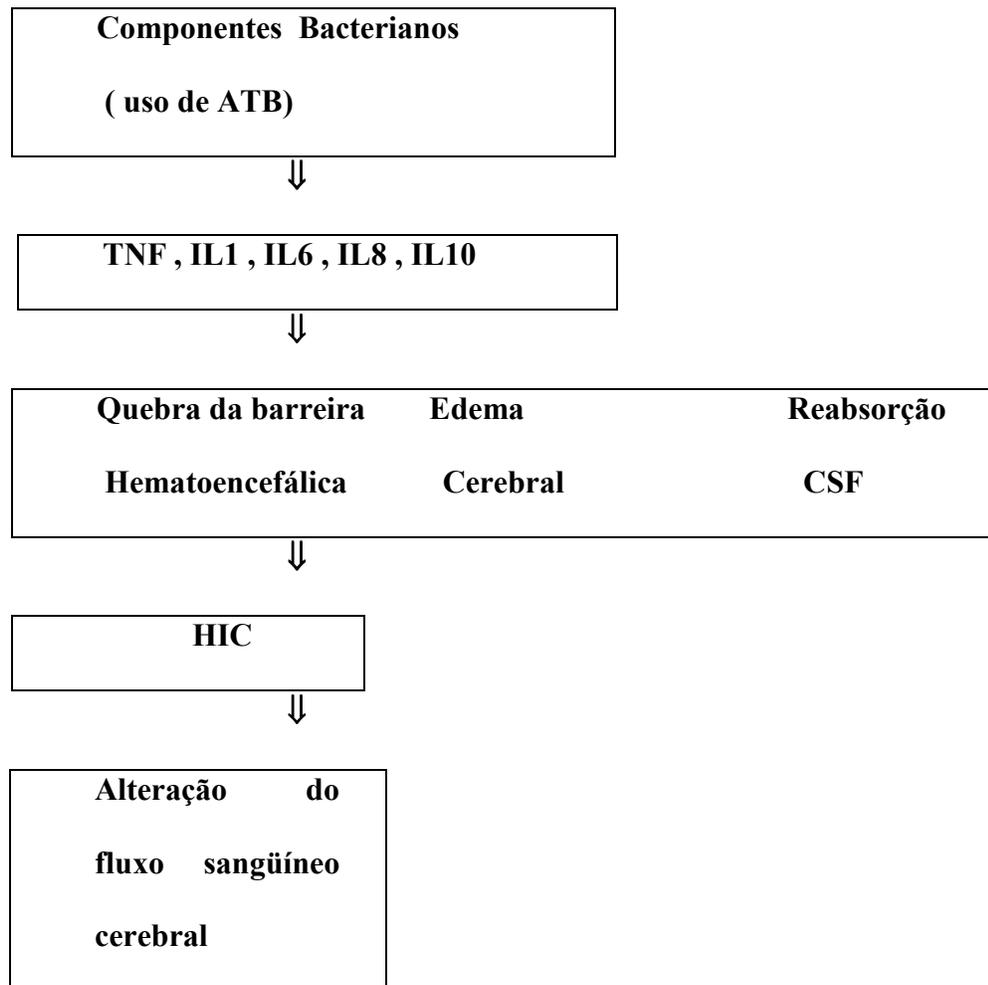
Em resposta à produção de citocinas, os neutrófilos migram para dentro do líquido cefalorraquidiano, contribuindo para os efeitos deletérios da inflamação no SNC. Quando os neutrófilos e macrófagos são ativados, aumenta a produção de radicais livres, que são moléculas derivadas da redução parcial do oxigênio, diminuindo a perfusão cerebral, devido ao vasoespasmó e trombose vascular que provocam. O óxido nítrico é outro produto proveniente de macrófagos e neutrófilos que são ativados pelas citocinas e também contribuem com a pleocitose no líquido cefalorraquidiano, com a alteração da permeabilidade da barreira hematoencefálica, com as alterações do metabolismo cerebral, com o aumento da pressão intracraniana e com o edema cerebral.^{51,61}

A produção de Matrix-Metalloproteinases (MMPs), que são endopeptídeos zinco dependentes, provenientes dos leucócitos ativados pelo TNF- α , desenvolvem importante papel na fisiopatogenia da meningite.^{62,63,64} Estes endopeptídeos podem degradar os colágenos tipo IV e V, que são os principais componentes da membrana hematoencefálica, levando à ruptura desta barreira protetora do SNC. Além disso eles podem sustentar o processo inflamatório pela sua função de clivagem do TNF- α em sua forma solúvel e madura.^{65,66}

1.3.4- Lesão Neuronal

A lesão do parênquima cerebral é a mais importante consequência da meningite bacteriana.^{68,69} Seqüelas neurológicas decorrentes de lesão neuronal incluem: déficit de aprendizado, retardo mental, paralisia cerebral, surdez cortical, síndromes neurosensoriais cegueira cortical e convulsões.^{67,69,70} A patologia da meningite bacteriana inclui a inflamação do espaço subaracnoideo, o processo inflamatório dos vasos cerebrais e a lesão de parênquima cerebral. A inflamação do espaço subaracnoideo consiste em um exsudato formado exclusivamente por granulócitos, que recobrem a base e a convexidade do SNC. O envolvimento dos vasos cerebrais é macroscopicamente óbvio, onde há a infiltração dos vasos por células inflamatórias com presença de trombose. Lesão no parênquima cerebral é evidente pela presença de edema cerebral, áreas de infarto cerebral e por alterações histológicas. Perda neuronal evidenciada como atrofia cerebral em exame de Ressonância Nuclear Magnética é um achado em pacientes que sobrevivem a esta doença.⁷¹

A figura abaixo expressa um resumo rápido da fisiopatogenia da meningite bacteriana, conforme mencionado anteriormente.



Modificado de Shrier L A. Bacterial and Fungal Infections of the Central Nervous System. In Berg B. Principles of Child Neurology. 1º ed. San Francisco: International Edition; 1996. 749-77

Figura 2- Fisiopatogenia da meningite bacteriana, retirado de Bacterial and Fungal Infections of the Central Nervous System de Lydia A. Shrier

1.4-Líquido cefalorraquidiano:

O líquor, localizado no espaço subaracnóide, é um fluido corporal metabolicamente ativo, dinâmico, que apresenta importantes funções no SNC tais como: proteção do SNC contra traumas por funcionar como barreira mecânica, prover nutrientes para o SNC, reservatório para os produtos da degradação metabólica, manter a pressão do SNC e propriedades anti-bacterianas.⁷²

Sua formação dá-se principalmente no plexo coróide dos ventrículos (70%) com o restante sendo formado em sítios extracoroidais. O epêndima ventricular, o Aqueduto de Silvius, as superfícies aracnóides do cérebro e da medula e os capilares sanguíneos, correspondem à estes sítios de formação do líquor. Sua produção é em torno de 0.35ml/min ou 500ml por dia sendo seu volume substituído a cada 5 à 7 horas. Esta produção permanece constante mesmo com grandes alterações na pressão liquórica de até 200mm de água.⁷²

O volume de líquido cefalorraquidiano depende da idade da criança. Um prematuro apresenta entre 10ml à 30ml de líquor e um recém nascido à termo em torno de 40ml. Uma criança de 4 à 13 anos de idade apresenta um volume que varia de 65 à 140 ml, com uma média de 90ml.⁷³

A pressão do líquor é variável e interfere com a respiração, com a posição postural, com a pressão sanguínea, com as alterações de fluxo sanguíneo cerebral, com os fatores psicológicos e com o esforço físico. Na respiração a pressão liquórica diminui na inspiração e aumenta com a expiração.⁷⁴

Em uma série de 1000 pacientes normotensos que realizaram o procedimento de punção lombar, a média de pressão do líquido cefalorraquidiano encontrada na manometria foi de 85 à 110mm de água em lactentes e 150mm de água em pré escolares e escolares.⁷⁵ Estes valores não podem ser aplicados para pacientes na posição ortostática nem na posição sentada onde há um aumento de até 400mm de água na pressão.⁷⁶

1.4.1-Composição química

O líquido cefalorraquidiano é formado principalmente por sódio (transporte ativo) e água (difusão passiva). Muitos outros componentes do plasma estão presentes como a glicose, as proteínas, os eletrólitos, os minerais, as enzimas, os elementos formadores do sangue, fatores bactericidas e metabólitos, mas é a água o grande componente (99%). Sua osmolaridade é 5 vezes maior do que a do plasma e o PH mais baixo do que o do sangue arterial, em torno de 7,32, principalmente devido ao maior conteúdo de pCO₂ no líquor, aproximadamente 48 mmHg.⁷⁵

As concentrações médias dos eletrólitos e minerais no líquido cefalorraquidiano normal são:140mEq/l de sódio(NA); 2mEq/l de potássio(K); 115mEq/l de cloro; 2,5 à 3mEq/l de cálcio; 1,6mEq/l de fósforo e 2,2mEq/l de magnésio.⁷⁵ Devido à imaturidade da barreira hematoencefálica do recém nascido, a bilirrubina pode ser encontrada no líquor destes pacientes quando a sua concentração sérica variar de 10 à 15mg/dl.⁷⁴

A concentração de glicose no líquido é normalmente mais baixa do que a concentração sérica porque a glicose não se difunde tão facilmente através das membranas como o faz a água. Ela é proveniente do plasma através do transporte facilitado por carreador de membrana e apresenta diferentes concentrações através do neuro-eixo, sendo maior nos ventrículos e diminuindo nas cisternas e região lombar.⁷⁶ A sua concentração no líquido é idade dependente, sendo relativamente menor no neonato do que em crianças maiores, devido à imaturidade dos mecanismos de troca e ao aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica. Atinge uma concentração madura em torno de 4 à 6 semanas após o nascimento.⁷²

No que confere às proteínas no líquido, sua concentração é muito menor em relação ao plasma, em parte devido à exclusão de proteínas de alto peso molecular e também porque a saída de proteínas do líquido é 200 à 300 vezes maior do que a sua entrada.⁷⁴ Assim como a glicose, existe uma variação da concentração de proteínas através do neuro-eixo, sendo duas vezes maior na região lombar comparado aos ventrículos. Sua concentração também é idade dependente, sendo maior no recém nascido. As proteínas atingem uma concentração madura por volta das 4 à 8 semanas após nascimento.^{74,75}

Das proteínas encontradas no líquido a albumina e a gamaglobulina são as mais comuns sendo responsável por 70% e 15% respectivamente com uma relação albumina: globulina de 5:1.⁷⁵

O número de leucócitos encontrados no líquido também é maior em recém nascidos (RN). A média de leucócitos encontrada em líquido de RN normais é de 11 leucócitos por mm^3 comparado com lactentes de 1 à 2 meses de idade que apresentam

em torno de 7 leucócitos por mm^3 . Acima de 6 semanas de idade a média diminui para 2,3 leucócitos por mm^3 , sendo que somente 10% de crianças entre 0 e 8 semanas tem uma contagem de leucócitos igual a zero. Em relação ao número total de neutrófilos, somente 5% de crianças tem um número absoluto de neutrófilos ≥ 1 e 58% tem número absoluto de neutrófilos igual à zero.

Em um estudo realizado com 106 crianças acima de 4 semanas de vida, com líquido negativo para bactérias e contagem de leucócitos normal para a idade, o percentual de neutrófilos encontrado foi: $< 5\%$ em 68%, $< 20\%$ em 91% e $\leq 35\%$ em 100%, sendo que somente 5% apresentaram número total de neutrófilos $\geq 1/\text{mm}^3$.⁷²

1.4.2- Avaliação do líquido cefalorraquidiano na meningite bacteriana:

O exame do líquido cefalorraquidiano é o teste de laboratório mais importante para o diagnóstico de meningite. Ele permite determinar: intensidade do processo inflamatório; agente etiológico; anticorpos específicos, os quais informam indiretamente a etiologia da infecção.

Após ser retirado do espaço subaracnóide, através do procedimento de punção lombar, este deve ser avaliado quanto ao aspecto, manometria, citologia, exame químico, bacterioscopia, cultura e outros testes diagnósticos conforme a necessidade do pesquisador.

1.4.2.1- Aspecto:

O aspecto é o primeiro ítem a ser avaliado, normalmente ele é límpido, claro, como “água de rocha”, formado principalmente por água e sódio como mencionado anteriormente. A pleocitose é que confere um aspecto opalescente ao líquido mas a turbidez pode também ser causada pela presença de germes, com a nula ou escassa participação celular, como ocorre em crianças com meningite bacteriana com pobre resposta granulocítica.³

A xantocromia, é a cor amarelada do líquido e resulta da lise de eritrócitos presentes no líquido há mais de cinco horas. O líquido levemente hemorrágico (decorrente de acidente de punção) ou com concentrações de proteínas superiores a 200mg%, pode apresentar-se xantocrômico; entretanto, quando centrifugado, a camada sobrenadante perde o aspecto amarelado ou sanguinolento. Hemorragias recentes do SNC tornam o líquido sanguinolento mesmo após centrifugação.²

A presença de bilirrubina no líquido causada por hemorragia subaracnóidea é detectada apenas 10 horas após o início da lise eritrocitária, embora ela possa persistir até 2 à 4 semanas.

Juntamente com a avaliação do aspecto faz-se o exame de manometria que consiste na avaliação da pressão de abertura do líquido no espaço subaracnóideo. A pressão líquórica na meningite bacteriana é normalmente elevada e encontra-se acima de 300mm H₂O . Bonadio documentou em crianças com meningite bacteriana nos dois primeiros dias de doença um pico de pressão de 200 à 320mm H₂O com uma média de 240mm H₂O de pressão de abertura líquórica.⁷²

1.4.2.2- Exame citológico:

Após a avaliação do aspecto, o líquido deve ser examinado imediatamente na procura de células vermelhas (eritrócitos) e células brancas (leucócitos), que consiste no exame citológico. A pleocitose no líquido é um achado encontrado em pacientes com meningite viral e bacteriana, sendo a média de leucócitos bastante elevada na meningite piogênica e dependente do agente causal. Quando consideramos os três patógenos mais comuns causadores de meningite bacteriana, a média de leucócitos encontrada em líquido com *N. meningitis* foi a maior, em torno de 5476/ mm³, comparado com 4612/mm³ na meningite por *H. influenzae* e 1136/mm³ por *S. pneumoniae*. Existem casos de meningite bacteriana sem a presença de pleocitose associada, caracterizando 4% dos casos em geral, sendo este fenômeno mais comum em prematuros (15%) e recém nascidos (17%).^{10,72}

A quantificação, no líquido, do número absoluto de neutrófilos é tão importante quanto o número de leucócitos pois ajuda no diagnóstico diferencial de meningite asséptica e bacteriana. A maioria dos casos de meningite bacteriana em pacientes com idade superior à 30 dias de vida têm mais de 50% de neutrófilos na contagem de células do líquido.

Em um estudo de casos, Bonadio e colaboradores encontraram um percentual de neutrófilos de >90% em 62% dos casos estudados, >80% em 85% de casos e >70% em 98% dos casos, somente 1 paciente dos 112 estudados com predomínio de linfomonócitos.⁷² Quando ocorre pleocitose com predomínio de neutrófilos na meningite asséptica, é sabido que a repetida análise do líquido

cefalorraquidiano 6 à 8 horas após o primeiro podem ser encontrado as alterações características da meningite asséptica que é a pleocitose com predomínio de linfomonócitos encontrada em 87% dos casos.⁵

Recentes estudos têm demonstrado uma correlação entre número de leucócitos no líquido e prognóstico de doença. Crianças com diagnóstico de meningite por *S. pneumoniae* onde o número de leucócitos no líquido foi $\leq 1000/\text{mm}^3$ apresentaram uma mortalidade maior (25%) em relação àqueles com número de leucócitos $\geq 1000/\text{mm}^3$.⁷⁸ Malley e colaboradores demonstraram em um estudo que crianças com meningite meningocócica sem pleocitose no líquido apresentaram também um pior prognóstico de doença.⁷⁸

1.4.2.3- Exame bioquímico:

Dois testes bioquímicos importantes na análise do líquido, principalmente na meningite bacteriana, são a glicose e as proteínas. A hipoglicorraquia está presente na maioria dos casos de meningite bacteriana apresentando uma resolução após 48 horas de antibiótico em 70% dos casos. A diminuição da glicose no líquido na meningite bacteriana é multifatorial e ocorre pelo aumento do transporte de glicose nas vilosidades da aracnóide, pelo aumento no metabolismo no SNC e medula, pela inibição da entrada de glicose no espaço subaracnoideo devido alterações no transporte de membrana e pela glicólise induzida pelos leucócitos e bactérias.⁷²

A concentração de glicose no líquido em uma série de casos realizado em pacientes com meningite bacteriana demonstrou uma importante hipoglicorraquia, entre

19 à 30 mg/dl , enquanto que em outro estudo foi detectado de 0 à 10mg/dl em 27%, de 11 à 20mg/dl em 16%, de 21 à 40mg/dl em 36% e >40mg/dl em 19%.^{79,80} Em geral, a relação entre a concentração de glicose no líquido versus a sérica na meningite bacteriana é $\leq 0,4$.⁸¹

A concentração baixa de glicose no líquido tem sido demonstrada como fator de risco para seqüela auditiva em pacientes com meningite bacteriana. Arditi e colaboradores demonstraram em um estudo que o risco de surdez uni ou bilateral em crianças é maior quando a concentração de glicose no líquido for menor. Das crianças com seqüela auditiva, 45% destas apresentaram concentração de glicose no líquido < 20mg/dl, comparado com 28% de crianças com semelhante concentração de glicose no líquido e audição normal.⁷⁴

Uma elevação anormal da concentração de proteínas no líquido ocorre na maioria dos casos de meningite bacteriana. A média da concentração sérica de proteínas nestes casos é de 130 à 299mg/dl, sendo que valores absolutos de 500 à 1000mg/dl podem ocorrer em 14% dos casos e valores >1000mg/dl em 8%.⁷²

Em meningite por *S. pneumoniae* uma mortalidade maior foi encontrada em pacientes que apresentaram concentração de proteínas no líquido ≥ 250 mg/dl, 32% comparado com 4% em pacientes com níveis de proteínas no líquido ≤ 250 mg/dl.⁷⁷ Outros estudos não confirmam estes achados.

1.4.2.4- Exame bacterioscópico (Gram):

O exame bacterioscópico juntamente com a cultura e o PCR continuam sendo os testes mais precisos no diagnóstico de meningite bacteriana. O exame de Gram é um método rápido e útil na análise inicial do líquido de pacientes com suspeita de meningite.

Em um estudo com 2635 amostras de líquido de pacientes com meningite bacteriana, o índice de positividade do gram foi de 88% das amostras que apresentaram cultura positiva. Quando retirado do estudo os pacientes que receberam antibioticoterapia prévia, este índice aumentou para 92%, com 0,1% de falsos positivos.⁸²

A tabela abaixo apresenta a sensibilidade do exame bacterioscópico nas diferentes etiologias de meningite bacteriana encontradas por Gray B M.⁴⁰

Tabela 2 – Uso do exame bacterioscópico no diagnóstico de meningite bacteriana

Etiologia	Sensibilidade
Qualquer etiologia/ Sem ATB	75% à 90%
Qualquer etiologia/ Uso de ATB	40% à 60%
<i>S. pneumoniae</i>	90%
<i>N. meningitidis</i>	75%
<i>H. influenzae</i>	86%
<i>L. monocitogenis</i>	<50%
Bacilos gram negativos	50%

O exame bacterioscópico apresenta uma sensibilidade de 60% à 90% e uma especificidade de 100%.⁸²

1.4.2.5- Exame de cultura do líquido:

A vantagem da cultura do líquido consiste na sua disponibilidade, na sensibilidade e especificidade altas do teste.⁸³

Sangue de ovelha e ágar chocolate são os dois principais meios de cultura utilizados em microbiologia para a cultura de amostras de líquido. A presença de sangue na cultura identifica o *S. pneumoniae* em 80% das meningites causadas por este microorganismo, em 90% das causadas por *N. meningitidis* e em 94% das causadas por *H. influenzae*.^{84,85}

A cultura de vírus é capaz de detectar somente 14% à 24% das causas de meningites virais, mas quando positiva é diagnóstica.^{86,87} O mesmo ocorre com fungos e micobactéria onde a positividade da cultura é de 44% para a *Candida meningitidis* e de 52% à 83% na meningite tuberculosa.

1.4.2.6- Outras técnicas diagnósticas:

Testes diagnósticos rápidos tem sido desenvolvidos que podem ser úteis no diagnóstico e tratamento da meningite bacteriana.

A Contraimuno eletroforese (CIE) é um teste rápido, que pode distinguir cápsulas de polissacarídeos de *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* e *H. influenzae*, além de não alterar com o uso prévio de antibióticos. Cerca de 30 a 60 min são necessários para a sua realização. Sua sensibilidade é em torno de 60% à 90%, com um alto índice de

falsos negativos.^{88,89} Este exame foi substituído rapidamente pelo teste do látex que também detecta antígenos de vários tipos de bactérias.

Teste do látex consiste na aglutinação de partículas de látex, envolvidas com anticorpos por antígenos bacterianos liberados no líquido, e com maior eficácia que a (CIE). Este teste é bastante simples, rápido e confiável nas meningites por *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis* e *Streptococcus* do grupo B. A resposta é obtida em 30 minutos. Sua sensibilidade é em torno de 90% à 100% para o *H. influenzae* e 83% à 100% para o *S. pneumoniae*.^{90,91,92} Podem ocorrer falsos positivos em indivíduos portadores do fator reumatóide ou em reações cruzadas.

O ELISA pode detectar antígenos no líquido com maior sensibilidade e especificidade quando comparado ao exame (CIE). A principal desvantagem é o tempo requerido para a realização do exame, cerca de 3 à 6 horas. Ele se destaca pelo baixo custo dos reagentes e do equipamento empregado.⁹²

A análise da proteína C-reativa no líquido tem sido proposta como teste útil no diagnóstico diferencial entre meningite asséptica e bacteriana, mas as evidências ainda são insuficientes em demonstrar estes resultados. Alguns autores propõem que a análise da proteína C-reativa juntamente com o exame clínico e análise laboratorial do líquido reforçam o diagnóstico de meningite bacteriana. Outros autores relatam que a proteína C-reativa é útil na evolução clínica da meningite bacteriana, e não para o seu diagnóstico.⁹³

Garty e colaboradores descreveram outro teste laboratorial bastante simples que pode ser útil no diagnóstico diferencial entre meningite viral e bacteriana, que é a agregação dos leucócitos no líquido. Este teste é bastante rápido e barato, mas necessita

de mais estudos para a sua utilização. Ele pode ser utilizado como coadjuvante no screening diagnóstico da meningite bacteriana.^{94,95}

A (PCR) ou, teste de cadeia polimerase, também tem sido utilizada em pacientes com meningite bacteriana na detecção do DNA da bactéria. Em estudo realizado por Radstrom e colaboradores, foram identificados 87 DNA de 98 amostras de líquido de pacientes com *N. meningitidis*, *S. pneumoniae* e *H. influenzae*. O teste apresentou uma sensibilidade de 89%, sem falsos positivos.⁹⁷

Em outro estudo realizado, o PCR detectou o *S. pneumoniae* de todas as amostras de líquido que apresentaram cultura positiva para esta bactéria, sem falsos positivos. O teste necessitou de apenas poucas horas e um volume de 15 µl para ser realizado.⁹⁸

Outra função importante do PCR é a rápida detecção de vírus em amostras de líquido de pacientes com suspeita de meningite, diminuindo com isso o tempo de hospitalização e tratamento com antibiótico nestes pacientes. Genes de enterovírus têm sido facilmente detectados por vários laboratório.^{99,100}

Em estudo realizado com 22 amostras de líquido, o exame cultural foi positivo em 9 amostras coletadas após aproximadamente 6,5 dias de realização do exame. Destas amostras com cultura positiva, todas apresentaram PCR positivo em 24 horas da realização deste exame além de 6 outras amostras que não foram positivas na cultura.⁹⁹

Read e colaboradores, encontraram uma sensibilidade de 94% do PCR no diagnóstico de meningite viral, concluindo que este teste diagnóstico consiste no padrão-

ouro para detecção desta patologia. Este achado pode ser confirmado em demais estudos realizados posteriormente.^{100,101,102}

A tabela abaixo resume os principais métodos diagnósticos utilizados para diagnóstico de meningite bacteriana com suas vantagens e desvantagens:

Tabela 3-Métodos diagnósticos para a detecção de microorganismos na meningite bacteriana

Método	Vantagens	Desvantagens	Tempo	Custo
Cultura	-Padrão- ouro -Disponível	-Demorado -Não crescimento de alguns microorganismos em vitro. -Mais sensível	Dias ou semanas	+++
Gram	-Rápido	Menos sensível que os outros testes	Horas	+
Pesquisa de antígenos (fluorescência látex, aglutinação)	-Rápido	Menos sensível	Horas	++
PCR	-Sensível -Relativamente rápido	Pode detectar microorganismos presentes por contaminação do material	Horas ou dias	++++

Legenda: += <\$10, ++ = \$10 to \$50, +++ = \$50 to \$100, ++++ = >\$100

Modificado de Thomson R B. Laboratory Diagnosis of Central Nervous System Infections, Thomson 2001; 15:4.

Alguns autores propõem a análise do líquido através de fitas reagentes de urina. Há poucos trabalhos disponíveis na literatura que comprovem de forma definitiva a eficácia destes métodos no diagnóstico de meningite bacteriana.^{103,104,105,106,107}

Moosa et al analisaram 234 amostras de líquido em crianças, com o uso de fitas reagentes de urina (Multistix®). Chegaram a uma sensibilidade de 97% e uma especificidade de 100% no diagnóstico de meningite.¹⁰⁴ Molyneux e colaboradores analisaram 257 amostras de líquido em crianças, comparando os achados do multistix com o padrão ouro (bioquímica, gram e cultural).¹⁰⁵ Quando o líquido se encontrava turvo a especificidade e sensibilidade no diagnóstico de meningite bacteriana foi de 100%, porém quando o líquido apresentava aspecto claro, incolor, a sensibilidade e a especificidade do multistix para o diagnóstico de meningite bacteriana foi de 33% e 83% respectivamente.

O emprego de fitas reagentes que são testes simples e rápidos que detectam proteínas, glicose e células no líquido podem se tornar um recurso auxiliar para o diagnóstico de infecções meníngeas bacterianas, principalmente em casos com dificuldades para obtenção de volume suficiente do líquido capaz de permitir a realização da citobioquímica de rotina.

2 - OBJETIVOS:

2.1 - Geral:

2.1.1 Avaliar a acurácia do uso da fita reagente Multistix® na análise do líquido cefalorraquidiano em crianças.

2.2 - Específicos:

2.2.1- Verificar a capacidade da fita reagente para definir meningite em crianças.

2.2.2- Verificar a acurácia da fita reagente em mensurar leucócitos, proteínas e glicose no líquido.

3-PACIENTES E MÉTODOS:

3.1-Delineamento:

Trata-se de um estudo transversal, prospectivo, observacional, realizado no Hospital São Lucas da PUCRS, no período de abril de 2000 à setembro de 2001. Esta pesquisa foi aprovada pela Comissão Científica e de Ética da PUCRS, tendo como condição indispensável para a inclusão dos pacientes no estudo, que um dos pais ou responsáveis firmasse o termo de consentimento pós-informado (Anexo 1).

3.2- Seleção da amostra:

A população em estudo foi constituída por crianças e adolescentes de 0 à 18 anos, que foram submetidas ao exame de punção lombar, internadas ou atendidas no serviço de Pediatria do Hospital São Lucas da PUCRS no período de abril de 2000 à setembro de 2001.

3.3- Critérios de Inclusão:

Para fazer parte do estudo, deveriam ser atendidos todos os seguintes critérios de elegibilidade:

- (a) Idade: crianças e adolescentes de 0 à 18 anos;
- (b) Intervenções: pacientes com indicação de realizar exame de punção lombar no serviço de Pediatria do Hospital São Lucas da PUCRS de 2^a à 6^a feira no horário das 8:00 as 18:00 hs;
- (c) Termo de consentimento: eram fornecidas verbalmente aos pais e/ou responsáveis e aos pacientes, todas as informações referentes à coleta do líquido, assim como o exame da fita reagente. Para incluir o paciente na pesquisa um dos responsáveis deveria firmar o termo de consentimento pós-informado (Anexo1).

3.4-Critérios de exclusão:

Não houve exclusões no estudo.

3.5- Intervenção:

A indicação e a realização do exame de punção lombar eram atribuição exclusiva do chefe de plantão da emergência do dia, sem a participação da autora do trabalho. A autora do trabalho era solicitada somente para o acompanhamento do exame cada vez que este procedimento fosse realizado.

O procedimento de punção lombar consiste na colocação de uma agulha apropriada entre os espaços intervertebrais do paciente para a coleta do líquido cefalorraquidiano circulante no espaço subaracnóide. Usualmente o líquido é coletado com o paciente em decúbito lateral fletido, podendo ser coletado também na posição sentada. A agulha de punção é colocada entre os espaços intervertebrais L3-L4 ou L4-L5 até o espaço subaracnóide para a coleta de um volume de líquido que varia de 6 à 8 ml para análise completa. Deve-se fazer a coleta em dois tubos assépticos e encaminhá-los rapidamente ao laboratório para análise. Podem ser realizados: manometria, avaliação do aspecto, citologia, exame químico, bacterioscopia, cultura, teste do látex, ELISA, Contraímunoeletroforese cruzada (CIE), Radioimunoensaio (RIE), Imunofluorescência, teste do lactato, quantificação das bactérias, determinação de enzimas, pesquisa genômica (PCR).

Quando a pressão do líquido é alta somente um pequeno volume é retirado para evitar a queda rápida da pressão intracraniana.^{1,2,88}

Como rotina, no nosso serviço, são retirados 2 ml de líquido. O líquido é colocado em dois frascos estéreis e encaminhado ao laboratório para análise bioquímica, citológica, bacterioscópica e cultural, o que deve ser feito nos primeiros 30 minutos após a coleta, para que não haja alteração no resultado da mesma. A análise laboratorial do líquido é realizada por um técnico treinado em laboratório sob a supervisão de um hematologista ou de um bioquímico, que, durante a realização deste estudo, desconheciam a realização da pesquisa e/ou os resultados do teste de fita reagente realizado pela autora.

Concomitante a análise laboratorial do líquido, este material foi examinado através da fita reagente Multistix®. Para tal fim, uma gota de líquido era colocada sobre cada reagente da fita, sendo necessárias três gotas para a realização do teste.

Eram avaliadas as reações de glicose, leucócitos e proteínas no líquido através da fita reagente e comparadas à análise laboratorial deste material em todas as crianças submetidas ao exame de punção lombar.

Sabendo-se que existe uma média de 8 à 9 amostras de líquido coletadas por semana no hospital da PUCRS, estima-se que aproximadamente 130 à 180 amostras são obtidas durante o período de um ano, das 8 às 18 horas, de segunda à sexta-feira. Considerando-se uma perda em torno de 20% obtém-se em torno de 100 à 150 amostras, que foi considerada um número suficiente para comparação de resultados.

3.6- Medidas e instrumentos:

Para todas as crianças e adolescentes elegíveis para a pesquisa, foram preenchidos protocolos onde constavam: nome, sexo, idade, registro, dados de laboratório e dados da fita reagente (Anexo 2), todos os dados foram preenchidos pela autora do trabalho.

3.7-Exame do líquido cefalorraquidiano

3.7.1- Laboratório:

3.7.1.1- Exame Físico e Citológico

O exame físico e citológico do líquido é realizado no setor de hematologia do hospital da PUCRS.

O exame citológico baseia-se na contagem de células com posterior sedimentação e coloração para obtenção da diferenciação das mesmas.

O exame físico consiste na avaliação do aspecto, cor, presença ou ausência de sangue, presença ou ausência de coágulo. O aspecto varia de opalescente, turvo ou sanguinolento. A cor pode ser classificada como incolor, levemente xantocrômica, xantocrômica, levemente eritrocômica ou eritrocômica.

A contagem das células é realizada em câmara de Fuchs-Rosenthal (256 retículos divididos em 16 quadrantes). Conta-se o número de eritrócitos e leucócitos presentes em toda a câmara e divide-os por 3 (capacidade da câmara 3,2 ul). Em um líquido com grande número de eritrócitos faz-se uma diluição com solução salina para contar as hemácias e uma diluição com líquido de Turk para contar os leucócitos, este último hemolisa as hemácias facilitando a contagem dos leucócitos.¹⁰⁸

Coloca-se o material na câmara de Fuchs-Rosenthal, aguarda-se 15 minutos para a sedimentação espontânea e após conta-se as células em microscópio.

Atualmente a sedimentação espontânea foi substituída pela centrifugação. O tempo de centrifugação é de 10 minutos e a potência é 6. Após a secagem espontânea cora-se com May-Grünwald-Giemsa para fazer a diferenciação celular e realizar a contagem de leucócitos.^{109, 110}

O número médio de leucócitos no líquido é inversamente proporcional a idade do paciente e é relativamente maior no período neonatal comparado com lactentes de 4 à 8 semanas.⁷² Na tabela a seguir são apresentados valores de referência de leucócitos em crianças normais nas diferentes idades:

Tabela 4- variação do número de células presentes no líquido em crianças normais

Leucócitos	Média	Variação
Prematuros	9	0-29
Rn	8,2	0-22
0-4 sem	11	0-50
4-8 sem	7	0-50
>6 sem	2,3	–

Modificado de: The Pediatric Infectious Disease Journal 1992

Em nosso estudo consideramos número de células alterado quando superior à 10 células, já que a média de células em crianças normais nas diferentes faixas etárias varia de 2,3 à 9 células (tabela 1). Em um segundo momento consideramos a contagem de 100 células como ponto de corte para diagnóstico provável de meningite, pois a

maioria das meningites sejam elas virais ou bacterianas apresentam cerca de 100 à 1500 células.³

3.7.1.2-Glicose:

O exame de glicose no líquido é realizado no serviço de bioquímica do Hospital da PUCRS. O aparelho utilizado para dosagem é o Mega-Bayer e o teste utilizado é o Cinético UV Test Glicose (GLI-DH), onde a enzima glicose-desidrogenase (Gli-DH) catalisa a oxidação de glicose em D-gliconolactona e NADH. A quantidade de NADH formada é proporcional a concentração de glicose.

O líquido deve ser analisado imediatamente ou centrifugado e congelado a -18°C para evitar a glicólise. A contaminação bacteriana também pode interferir no teste. Os valores considerados normais encontrados no líquido são aproximadamente 60% dos valores plasmáticos.¹⁰⁹

A concentração de glicose no líquido depende da idade da criança e ela é relativamente menor em neonatos, devido à imaturidade nos mecanismos de troca nas membranas plasmáticas e do aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica nesta idade. Ela atinge concentrações ditas “maduras” com 4 à 8 semanas após o nascimento. Sua concentração apresenta-se menor no líquido em relação ao plasma porque a glicose não se difunde através das membranas plasmáticas tão facilmente quanto faz na água.⁷²

Os valores de glicose considerados alterados neste estudo foram valores laboratoriais abaixo de 50mg/dl, já que a concentração de glicose no líquido de crianças normais é cerca de 50% à 65% (2/3) dos valores da glicemia.⁷²

3.7.1.3- Proteínas:

O teste de proteínas no líquido também é realizado no serviço de bioquímica do Hospital da PUCRS e baseia-se no método de Fujita e Watanabe.¹¹¹

O aparelho utilizado é o Mega-Bayer, onde o vermelho de pyrogallol se combina com o molibdato para formar um complexo vermelho. Este complexo reage com as proteínas em solução ácida para formar um complexo colorido azul-púrpura. A intensidade da cor medida a 600nm é diretamente proporcional a concentração da proteína da amostra. A presença de sangue na amostra invalida os valores das proteínas, pois a concentração de proteínas no sangue total é aproximadamente 1000 vezes superior a do líquido.¹¹⁰

Os valores de proteína no líquido variam de acordo com a idade do paciente, sendo maior ao nascimento devido ao aumento da permeabilidade da barreira hematoencefálica, diminuindo com o passar das semanas de vida. Adquire-se um valor constante, em torno de 20 à 45 mg/dl a partir de 4 à 8 semanas de vida.⁷²

Consideramos como valores alterados de proteína, neste estudo, níveis superiores à 45mg/dl na análise laboratorial, sendo este valor considerado a média de proteínas encontrada em crianças normais, sem processo inflamatório.

Tabela 5: variação no número de proteínas presentes no líquido de crianças normais

Proteínas (mg/dl)	Média	Varição
Prematuro	115	65-150
Rn	90	20-170
0-4 sem	84	35-189
4-8 sem	59	19-121
>6 sem	28	20-45

Modificado de: The Pediatric Infectious Disease Journal 1992

3.7.1.4- Eritrócitos:

A contagem de eritrócitos é realizada sob visualização direta em microscopia. Em relação ao número de eritrócitos presentes no líquido, quando superior à 500 eritrócitos, considera-se acidente de punção e quando superior à 1000, punção traumática.

3.7.2- Fita Reagente:

O Multistix é uma fita reagente normalmente utilizada para avaliação da urina em seres humanos (figura 3.1). Ela é usada para detectar leucócitos na urina, assim como nitritos, urobilinogênio, proteínas, PH, hemácias, cetona, bilirrubina e glicose. É subdividida em dez porções com diferentes cores onde a urina entra em contato com um reagente específico, modificando ou não a cor da fita. As fitas estão

prontas para utilização uma vez removidas do frasco. Podem ser lidas visualmente, sem necessidade de equipamento adicional.

Para obter resultados precisos a autora do trabalho se preocupou em seguir algumas recomendações sugeridas pelo fabricante para que a interpretação da fita fosse o mais fidedigna possível: recolher uma amostra fresca de líquido; retirar uma fita do frasco e fechá-lo imediatamente; retirar o excesso de líquido sobre a fita; ler a fita no tempo recomendado para cada reagente para que as cores não se alterem; não tocar nas áreas reagentes da fita e conservá-las em temperaturas inferiores à 30°C.

O frasco contém 100 fitas reagentes. Cada fita é subdividida em 10 porções diferentes. Foram utilizados neste trabalho os reagentes para leucócitos, proteína e glicose. Existe uma escala de valores e cores próprias da fita que devem corresponder aos valores laboratoriais.

No reagente para glicose colocou-se uma gota de líquido sobre a fita e observou-se a cor produzida. A fita varia do negativo, que se apresenta como azul claro, ao reator forte, que se apresenta como marrom escuro. Ela se subdivide em: negativo para glicose, 100, 250, 500, 1000 e ≥ 2000 , todos representados por cores diferentes. Recomenda-se que a fita seja lida aos 30 segundos para evitar a glicólise.

Os reagentes encontrados para glicose consistem de glicose-oxidase 16,3%, peroxidase 0,6%, iodeto de potássio 7%, tampão 60,7% e excipientes inertes 15,4% que reagem com a glicose modificando a cor da fita. O ácido ascórbico em concentrações superiores à 2,84 mmol/l pode causar falso positivo em amostras com pequenas quantidades de glicose (4-7 mmol/l) e a presença de corpos cetônicos reduz a sensibilidade do teste.

Algumas cores mudam para tons mais intensos durante um curto período de tempo, para em seguida perder a intensidade; portanto as mudanças de cor que ocorrem depois de dois minutos, não têm valor diagnóstico.

Em nosso estudo, consideramos positivo para glicose quando a fita produziu uma cor correspondente à 100, 250, 500, 1000 ou ≥ 2000 mg/dl, e negativo quando a fita produziu uma cor correspondente à 0. O resultado positivo foi denominado teste “reator forte” e o resultado negativo “reator fraco”.

No que confere às proteínas, recomenda-se que a leitura seja feita aos 50 segundos. As proteínas variam conforme apresentação na fita reagente, do negativo para proteínas, que se apresenta como amarelo claro, à 2000, que é verde escuro. Ela subdivide-se em negativo para proteínas, traços de proteínas, 30 ou 1 cruz (+), 100 ou 2 cruces (++) , 300 ou 3 cruces (+++) e ≥ 2000 ou 4 cruces (++++). Estes valores também são representados por cores diferentes.

Azul de tetrabromotenol (0,3%) é o reagente encontrado na fita que entra em contato com as proteínas do líquido modificando a cor da fita, além de tampão (97,3) e excipientes inertes (2,4%). A área reativa da fita é mais sensível à albumina que à outras proteínas, como as globulinas, hemoglobinas e mucoproteínas. Substâncias alcalinas, altamente tamponadas podem provocar resultados falso positivos.

Foi considerado, em nosso estudo, negativo para proteínas quando a fita reagente produziu uma cor correspondente à negativo para proteínas, traços de proteínas e 30. Quando a fita demonstrou uma cor correspondente à 100, 300 e 2000 o teste foi considerado positivo para proteínas. O teste positivo para proteínas foi denominado de teste “reator forte” e o teste negativo de “reator fraco”.

Aos dois minutos, recomenda-se que seja realizada a leitura das células, que variam do negativo, representado por um bege, à 2000, representado pela cor violeta. As células variam conforme a apresentação na fita reagente em: negativo para células, traços de células, baixo número de células ou 1 cruz (+), moderado número de células ou 2 cruces (++) e alto número de células ou 3 cruces (+++).

Os reagentes encontrados na fita são: éster derivado de aminoácido pirrólico (0,4%), sal de diazônio (0,2%), tampão (40,9%), excipientes inertes (58,5%). As altas concentrações de glicose podem alterar o resultado do teste uma vez que diminuem a reatividade. Níveis altos de fármacos podem provocar reações falso-negativas.¹¹² Qualquer substância que produza cor, pode mascarar a reação e a interpretação da prova.

Neste estudo foi considerado positivo para células quando a fita reagente produziu uma cor correspondente à 2(++) ou 3(+++) e negativo para células quando a fita produziu uma cor correspondente à negativo para células, traços ou 1(+). O teste positivo foi denominado “reator forte” e o teste negativo “reator fraco”.



Figura 3- Fita reagente Multistix do laboratório Bayer

3.8- Aspectos éticos:

O protocolo da presente investigação foi previamente aprovado pelas Comissões Científicas e de Ética do Hospital São Lucas da PUCRS.

Consideramos este estudo como sendo de muito baixo risco em razão de: (a) o procedimento de punção lombar realizado nos pacientes em estudo não foi motivado pelo estudo, ele foi indicado pelo médico plantonista do hospital; (b) a coleta das amostras de líquido para a análise com a fita reagente Multistix não representou uma

coleta extra; (c) o volume de líquido utilizado não foi adicional ao coletado; (d) os dados obtidos com a pesquisa não interferiram na privacidade do paciente.

Os pais dos candidatos a participar da investigação foram detalhadamente informados acerca da metodologia, da inexistência de riscos ou prejuízos para os pacientes e quanto ao aspecto sigiloso. Depois de esgotadas todas as dúvidas e, no caso de concordarem que seu filho fosse incluído no estudo, os pais ou responsáveis deveriam firmar o termo de consentimento pós-informado (Anexo 1).

Neste estudo, os autores atenderam às determinações estabelecidas pelo Conselho Nacional de Saúde, na resolução 196/6, capítulos III - “Aspectos Éticos da Pesquisa em Seres Humanos”, IV - “Consentimento Livre e Esclarecido”, V - “Riscos e benefícios”, VI - “Protocolo de Pesquisa” e VII - “Comitê de Ética em Pesquisa”.

3.9- Aspectos estatísticos:

Os dados da pesquisa foram armazenados em banco de dados especificamente programado para este fim, utilizando o programa Excel, versão 7.0, para Windows 98 (Microsoft).

As variáveis numéricas com distribuição normal foram expressas através de médias e desvios-padrão (\pm DP) e aquelas com distribuição assimétrica através da mediana e amplitude. As variáveis categóricas foram expressas em percentagem (%) ou sob a forma descritiva.

Com o objetivo de avaliar a acurácia da fita reagente e a sua capacidade de fazer o diagnóstico de meningite foram calculados a sensibilidade, a especificidade, o valor preditivo positivo e o valor preditivo negativo.

A sensibilidade é definida como a proporção de indivíduos com uma doença que tem um teste positivo para a doença.¹¹³ Um teste sensível raramente deixa de detectar pessoas definidas como doentes e, por isso, é útil nas fases iniciais de um processo diagnóstico quando um grande número de possibilidades está sendo considerada. Este é um teste de triagem em investigação diagnóstica.¹¹⁴ Embora sensibilidade seja um termo usado com frequência, alguns autores preferem a expressão “PiD” (Positivity in Disease) e outros de “TP rate” (true positive rate) para expressar esta idéia.

Por outro lado, a especificidade é a proporção de indivíduos sem a doença e que tem um teste negativo. Testes específicos são úteis para excluir um diagnóstico sugerido, pois ele é raramente positivo na ausência de doença, não dando resultados falso-positivos. Um teste específico raramente classificará erroneamente pessoas sadias em doentes.¹¹⁴ Pode ser denominado também, por alguns autores em “NiH rate” (Negativity in Health) e “TN rate” (The true negative rate).

Sensibilidade e especificidade podem ser calculados pela análise vertical de uma tabela de contingência do tipo 2x2 disposta da seguinte maneira:

Tabela 6: Cálculo da sensibilidade e especificidade

	Desfecho positivo	Desfecho negativo	
Fator em estudo positivo	A	b	Valor Preditivo positivo
Fator em estudo negativo	C	d	Valor Preditivo negativo
	Sensibilidade $a / a + c$	Especificidade $D / b + d$	

Retirado de: Clinical Epidemiology A Basic Science for Clinical Medicine, 2 ° Edition

Para explicar melhor o cálculo da sensibilidade e especificidade de um teste diagnóstico utilizamos um exemplo retirado de um livro de epidemiologia que é a resposta ao questionamento: O uso da CPK (creatinoquinase), que é um exame de laboratório, pode ajudar no diagnóstico de infarto agudo do miocárdio (IAM) em pacientes que internam hospital com suspeita clínica?

Para responder esta pergunta, o autor do trabalho selecionou todos os pacientes em estudo e separou os que realmente apresentaram IAM dos que não apresentaram IAM, através de um exame padrão-ouro para a detecção da mesma. Após, realizou o teste em pesquisa e separou os positivos dos negativos, da seguinte maneira:

Tabela 7: Cálculo da sensibilidade e especificidade da CPK no IAM

	IAM	S/ IAM	
Teste positivo CPK	215 (a)	16 (b)	A+b 231
Teste negativo CPK	15 (c)	114 (d)	C+d 129
	230	130	a+b+c+d 360
	Sensibilidade a/a+c=93%	Especificidade d/b+d=88%	

Retirado de: *Clinical Epidemiology A Basic Science for Clinical Medicine, 2^o Edition*

Fizeram parte do estudo 360 pacientes. O número total de pacientes com a doença (IAM) apesar do seu teste de CPK ser positivo ou negativo foi de 230 e o número total de pacientes sem IAM foi de 130. Dos 360 pacientes, 231 tiveram um teste de CPK positivo e 129 tiveram um teste de CPK negativo.

A sensibilidade pode ser calculada através da seguinte fórmula: $a / a+c$, ou seja, dos 230 pacientes acometidos pela doença que é (a+c) 215 tiveram uma CPK positiva. Desta maneira $215/230=0,93$ ou 93% é a sensibilidade do teste CPK. Por outro lado a especificidade pode ser calculada através da fórmula: $d / b+d$, ou seja, dos 130 pacientes sem a doença que é (b+d) apenas 16 apresentaram uma CPK positiva. Deste modo $114/130= 0,88= 88\%$ que é a especificidade do teste.¹¹³

Como assinalado anteriormente, a sensibilidade e a especificidade são propriedades de um teste, que são levadas em conta ao tomar uma decisão sobre pedir

ou não um exame diagnóstico. Mas se o diagnóstico já é conhecido, não é necessário solicitar um teste diagnóstico, o dilema é determinar se o paciente tem ou não a doença, dados os resultados de um teste. A probabilidade de doença dados os resultados de um teste é chamada de valor preditivo do teste.¹¹³

O valor preditivo positivo é a proporção de doentes entre os considerados positivos ao teste e o valor preditivo negativo é a proporção de sadios entre os negativos ao teste, conforme a tabela abaixo.¹¹⁴

Tabela 8- Cálculo do valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN) da CPK no IAM

	IAM	S/ IAM	
Teste positivo CPK	215 (a)	16 (b)	231 VPP=a/a+b 215/231=93%
Teste negativo CPK	15 (c)	114 (d)	129 VPN=d/c+d 114/129=88%

Retirado de: *Clinical Epidemiology A Basic Science for Clinical Medicine*, 2^o Edition

Sensibilidade e especificidade são propriedades inerentes ao teste e não variam substancialmente, a não ser por mudanças na técnica ou por erros na sua aplicação. O mesmo não ocorre com os valores preditivos do teste, que dependem da prevalência do evento.¹¹⁴ Em consequência, a interpretação do valor preditivo deve ser cuidadosa. Trata-se de uma questão de probabilidade, e não de certeza, em que

assumem papel crucial, não somente a sensibilidade e a especificidade do teste, mas também a prevalência do agravo à saúde no segmento populacional de onde vieram os pacientes.¹¹⁴

Por exemplo, se o teste da CPK fosse aplicado à um número maior de pacientes, não somente nos casos suspeitos de IAM, mas também em todos os pacientes admitidos no hospital, a sensibilidade e a especificidade ficariam inalteradas mas o VPP e o VPN iriam alterar, pois ocorreu uma alteração na prevalência da doença, conforme evidente na tabela abaixo:

Tabela 9: Cálculo da sensibilidade, especificidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo

	IAM	S/ IAM	
Teste positivo CPK	215 (a)	248 (b)	463 VPP=a/a+b 215/463=46%
Teste Negativo CPK	15 (c)	1822 (d)	1837 VPN=d/c+d 1822/1837=99%
	230 Sensibilidade a/a+c=93%	2070 Especificidade d/b+d=88%	Prevalência a+c/a+b+c+d= 100%

Retirado de: *Clinical Epidemiology A Basic Science for Clinical Medicine, 2 ° Edition*

Observando as tabelas acima podemos constatar que o valor preditivo positivo (VPP) diminui a medida que diminui a prevalência da doença e o valor preditivo negativo (VPN) aumenta. Isto ocorre porque o valor preditivo positivo é a prevalência de doença entre os pacientes com um teste positivo.¹¹³ É por isso que, neste estudo, foi dada preferência à sensibilidade e especificidade do teste da fita reagente ao

invés do VPP e VPN porque a prevalência da doença em pesquisa que causa as alterações liquóricas é baixa.

Um gráfico que desenha a sensibilidade e especificidade de um teste diagnóstico com diferentes pontos de corte deste teste é chamado de curva ROC (receiver operator characteristic). A curva ROC para o teste da CPK do exemplo anterior é apresentada abaixo:

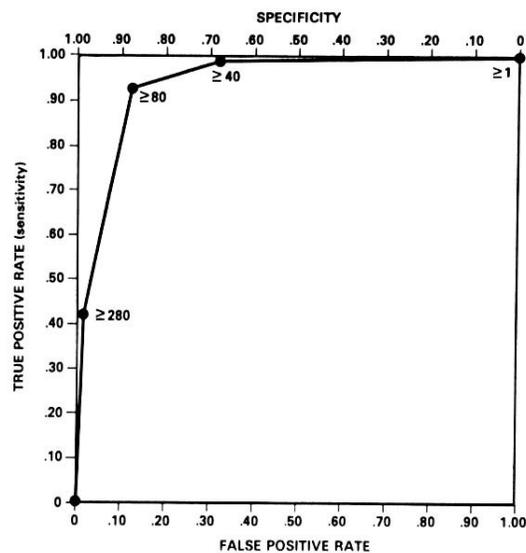


Figura 4- Curva ROC para valores de CK no IAM

A figura 4 mostra diferentes pontos de corte para valores de CK no infarto agudo do miocárdio. O melhor ponto de corte da CK é ≥ 80 , pois apresenta-se no canto superior esquerdo da curva.

A curva ROC é construída com a taxa de verdadeiro-positivos (sensibilidade) contra a taxa de falso-positivos (especificidade) ao longo de uma faixa de pontos de corte. Os valores nos eixos vão de uma probabilidade de 0 à 1,0 (ou, alternativamente, de 0 à 100%).¹¹³

Testes de bom poder discriminatório concentram-se no canto superior esquerdo da curva ROC; para eles, à medida em que a sensibilidade aumenta (diminuição do ponto de corte), há pouca ou nenhuma perda na especificidade, até que níveis altos de sensibilidade sejam alcançados. Testes de menor poder discriminatório têm curvas mais próximas à diagonal que vai da esquerda inferior à direita superior.¹¹⁴

A acurácia global de um teste pode ser descrita como a área sob a curva ROC; quanto maior a área, melhor o teste.

A figura 5 compara a curva ROC de dois questionários usados no rastreamento de alcoolismo em pacientes idosos – o CAGE e o MAST (Michigan Alcoholism Screening Test). O CAGE é mais sensível e mais específico que o MAST e produz uma área sob a curva bem maior.

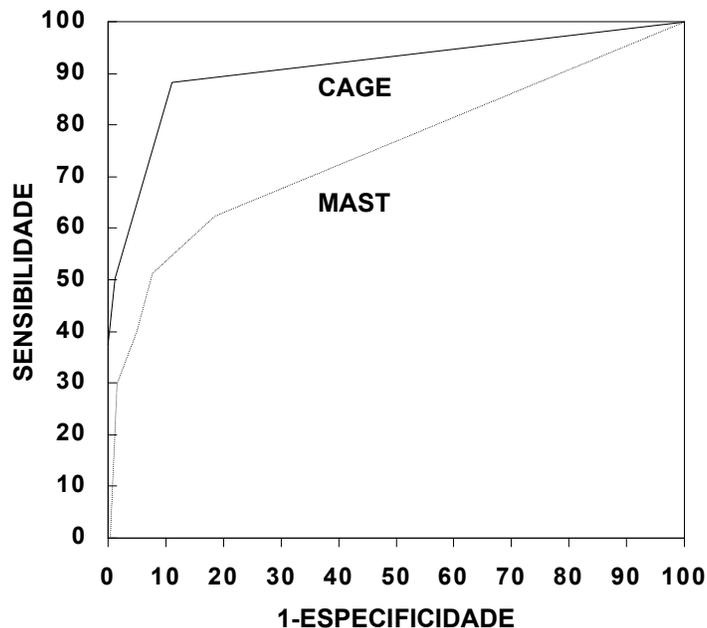


Figura 5- Curvas ROC para os questionários CAGE e MAST em pacientes idosos com e sem alcoolismo:

3.10- Custos:

Deve-se ressaltar que não houve custos com o uso da fita reagente Multistix® na qual foi doada pelo laboratório Bayer. Cada embalagem contém 125 fitas no custo de R\$ 89,00 com uma média de R\$0,70 cada fita. Gastos extras com xerox, papel, tinta para impressora e busca de artigos internacionais foram arcados pelo próprio pesquisador.

4-RESULTADOS:

4.1-Dados gerais de caracterização da amostra:

No período de abril de 2000 à setembro de 2001, foram coletados 343 amostras de líquido de pacientes entre 0 à 18 anos de idade que compareceram à emergência do Hospital São Lucas da PUCRS e que necessitaram do exame de punção lombar. Deste total, 146 preenchem os critérios de inclusão em nosso estudo, de coletas diurnas, das 8:00 às 18:00 horas de segunda à sexta-feira .

Das 146 amostras, 10(7%) foram perdidos pela impossibilidade de leitura adequada da fita reagente. Em três casos ocorreu a contaminação da fita por água, que altera a leitura da mesma. Nos outros sete casos ocorreu dúvida quanto a leitura da fita no que confere à tonalidade de cores dos reagentes da fita ou não foram encontrados os dados laboratoriais para posterior comparações dos resultados.

O presente estudo desenvolveu-se com as 136 amostras de líquido. Destas, 71 pertenciam a pacientes do sexo feminino (52%). A idade variou de 0 à 18 anos com uma

média de $3,05 \pm 3,7$ anos de idade, sendo que 19 pacientes (13,9%) apresentaram entre 0 e 28 dias de vida (tabela 10).

4.2- Análise Laboratorial do líquido céfalo-raquidiano:

Em 84 casos (61,8%) a análise laboratorial do líquido céfalo-raquidiano foi considerada normal (número de células inferior ou igual à 10) e em 52 (38,2%) considerada alterada (número de células superior à 10). Das 84 amostras considerados normais, a média de células encontrada foi de $3,48 \pm 2,8$ e nas 52 amostras alteradas, a média de células encontrada foi de $811,5 \pm 2277$ ($p=0,001$).

Das 52 amostras definidas como alteradas na análise laboratorial, 11(21%) apresentaram diagnóstico de meningite bacteriana confirmado por cultura de líquido positiva para bactéria. Destas, 6 foram ocasionadas pelo *S. pneumonie*, 3 pelo *H. influenzae* e 2 pela *N. meningitidis*.

Em 18% das amostras ocorreu acidente de punção e 14,7% punção traumática, conforme tabela 10:

Tabela 10- Características das 136 amostras de líquor cefalorraquidiano analisadas no estudo

	Valores
Elegíveis:	146
Perdas: n (%)	10 (7)
Gênero: masc : fem	1:1,09
Idade: média em anos (\pmdp)	3,05 \pm 3,69
Celularidade \leq a 10 células n (%)	84 (62)
Celularidade $>$ 10 células n (%)	52 (38)
Acidente de punção n (%)	25 (18)
Meningite bacteriana n(%)	11 (8)

Na análise laboratorial, quanto à presença de proteínas no líquor, observou-se que 66 (48,5%) amostras apresentaram número de superior à 45mg/dl. A média de proteínas encontrada nestas amostras foi de $153,8 \pm 212$. Por outro lado 70 (51,4%) amostras apresentaram número de proteínas inferiores à 45mg/dl, considerados como normais. A média de proteínas encontrada foi de $25,8 \pm 9,3$, conforme tabela 11.

Tabela 11- valores médios de proteína no líquor das 136 amostras através da análise laboratorial

Mg/dl	N (%)	Média(dp)
Proteína $>$45mg/dl n(%)	66 (48,5)	153,7 (\pm 212,6) *
Proteína \leq45mg/dl n(%)	70 (51,4)	25,8 (\pm 9,32)

* $p < 0,05$ (teste t Student)

Em relação à glicorraquia, 44 (32,3%) amostras foram consideradas alteradas (glicorraquia inferior à 50) e a média de glicose encontrada nestas amostras foi de $36,7 \pm 14,8$, enquanto que 92 (67,6%) apresentaram níveis de glicorraquia superiores à 50, considerados como normais. A média de glicose encontrada nestes líquores foi de $65,2 \pm 12,4$, conforme tabela abaixo:

Tabela 12- valores médios de glicose no líquido das 136 amostras através da análise laboratorial

	N (%)	Média (dp)
Glicose >50mg/dl n (%)	92 (67,6)	65,2 ($\pm 12,4$) *
Glicose \leq50mg/dl n (%)	44(32,3)	36,7 ($\pm 14,8$)

*p < 0,05 (teste t Student)

4.3- Análise do líquido céfalo-raquidiano através da fita reagente:

4.3.1-Celularidade:

Na análise da celularidade através da fita reagente foram interpretadas como negativas 111 (81,6%) amostras e como alteradas 25 (18,4%).

Quando comparamos o desempenho da fita reagente em detectar alterações na celularidade com os dados obtidos no laboratório, utilizando o ponto de corte de 10 células, observamos que das 52 amostras que apresentaram mais de 10 células, 25 (48%) foram interpretadas como reator forte segundo análise com a fita reagente e 27

(51,9%) como reator fraco ou negativo. A sensibilidade da fita reagente foi de apenas 48% para determinar um aumento na celularidade do líquido superior à 10 células.

Das 84 amostras que apresentaram número de células igual ou inferior à 10, segundo análise laboratorial, a fita reagente foi reator fraco em sua totalidade de casos, apresentando uma especificidade de 100%, conforme tabela 13:

Tabela 13- Acurácia da fita reagente em detectar alterações na celularidade líquórica tendo como ponto de corte 10 células

Fita reagente	> 10cel	≤10cel
Reator forte	25	0
Reator fraco	27	84

VPP=100%, VPN=76%, sensibilidade=48% e especificidade=100%

Ao adotarmos um ponto de corte de 100 células para definir meningite, observamos que 28 amostras apresentaram número de células superior à 100 na análise laboratorial e 108 apresentaram igual ou inferior à 100 células. Das 28 amostras alteradas, 21(75%) foram consideradas reator forte através da análise com a fita reagente e 7 (25%) considerados como reator fraco ou negativos, apresentando uma sensibilidade de 76% conforme tabela 15.

Das 108 (81,2%) amostras que apresentaram número de células igual ou inferior a 100 células, 104 (81%) foram consideradas reator fraco pela fita reagente e apenas 4 (3%) reator forte, apresentando uma especificidade de 96%, conforme tabela 14:

Tabela 14: Acurácia da fita reagente em detectar alterações na celularidade líquórica tendo como ponto de corte 100 células

Fita reagente	>100cel	≤100cel
Reator forte	21	4
Reator fraco	7	104

VPP=84%, VPN=93%, sensibilidade=76% e especificidade=96%

4.3.2-Proteínas:

Ao adotar um ponto de corte de 45mg/dl no valor protéico do líquido, podemos constatar que 66 (48,5%) amostras apresentaram número de proteínas superior à 45mg/dl (alterados segundo a definição proposta) e 70 (51,5%) apresentaram número de proteínas inferior ou igual à 45mg/dl (negativos).

Das 66 amostras consideradas alteradas, 54 (81,8%) apresentaram reator forte segundo análise com a fita reagente e 12 (18,2%) reator fraco. A fita apresentou uma sensibilidade de 80% para determinar alteração protéica no líquido.

Das 70 amostras considerados não alteradas, segundo análise laboratorial, 57 (81,4%) não apresentaram alterações, segundo análise com a fita reagente, e 13 (18,6%) apresentaram-se alteradas. A fita reagente apresentou uma especificidade de 81%, conforme tabela abaixo:

Tabela 15: Acurácia da fita reagente em determinar alterações nas proteínas líquóricas tendo um ponto de corte de 45 mg/d.

Fita reagente	>45prot	≤45prot
Reator forte	53	13
Reator fraco	13	57

VPP= 80%,VPN= 81%,sensibilidade=80% e especificidade=81%.

4.3.3-Glicose:

Ao adotarmos um ponte de corte de 50 no valor da glicose no líquido, 44 (32,3%) amostras apresentaram níveis de glicose inferior ou igual à 50mg/dl e 92 (67,6%) amostras apresentaram níveis de glicose superior à 50mg/dl na análise laboratorial.

Na análise do líquido com a fita reagente foram encontrados 129 (94,8%) amostras onde a leitura da fita apresentou reator forte e 7 (5%) amostras onde a leitura da fita apresentou reator fraco. Das 44 amostras consideradas alteradas segundo análise laboratorial, 7(15,9%) foram lidas como reator fraco pela fita reagente e 37(84%) como reator forte. A sensibilidade da fita reagente foi de 16% para a detecção de glicose e a especificidade 100%, conforme evidenciado na tabela 16:

Tabela 16- Acurácia da fita reagente em determinar alterações de glicose no líquido tendo um ponto de corte de 50

Fita reagente	<50glic	>50glic
Reator fraco	7	0
Reator forte	37	92

VPP= 71%,VPN=100%, sensibilidade=100% e especificidade=16%.

4.4-Capacidade da fita reagente em detectar alterações liquóricas de pacientes com meningite bacteriana confirmada por cultura:

Foram detectados 11 amostras com meningite bacteriana confirmada pela cultura positiva do líquido.

4.4.1- Análise laboratorial:

Dentre os casos de meningite bacteriana confirmados pela cultura positiva do líquido, a média de células encontrada no laboratório foi de 3115 ± 4328 e nenhum líquido com mais de 500 eritrócitos, isto é, sem acidente de punção. Referente ao número de proteínas nestes líquidos a média encontrada foi de 375 ± 276 , nenhum apresentou número de proteínas inferior ou igual à 45mg/dl. Na análise da glicose a média encontrada foi de $26,9 \pm 27,2$.

4.4.2- Análise com a fita reagente:

A fita reagente detectou todos as 11 amostras (100%) como reator forte para células, a sensibilidade encontrada foi de 100% e seu valor preditivo positivo também de 100%. A capacidade que a fita reagente teve em detectar alteração liquórica e de fazer diagnóstico entre as amostras definidas como meningite bacteriana foi de 100%.

De acordo com o número de proteínas, todos as 11 (100%) amostras foram consideradas reator forte ou alteradas e nenhuma reator fraco. Para proteínas a fita

reagente também apresentou uma sensibilidade de 100% e um valor preditivo positivo de 100%.

Sete (63,6%) amostras apresentaram reator fraco para glicose na análise com a fita reagente e 4 (36,3%) amostras reator forte. A fita reagente apresentou uma sensibilidade e especificidade muito baixas neste teste.

4.5- Construção da curva ROC(receiver operator characteristic)

Com os valores obtidos da sensibilidade e especificidade de cada reagente da fita Multistix em teste construímos diferentes curvas ROC. No eixo das ordenadas dispomos de valores de especificidade que vão de 0 a 1, ou, de 0 a 100% e no eixo das abscissas dispomos de valores de sensibilidade que também variam de 0 a 100%. Ao longo da curva analisamos diferentes pontos de corte.

Com o objetivo de avaliarmos o reagente para células na fita, construímos a primeira curva ROC, considerando meningite como número de células igual ou superiores à 100mg/dl no laboratório.

Analisando as tabelas e o gráfico abaixo podemos observar que o melhor ponto de corte para células na fita reagente foi de 3+ para o diagnóstico de meningite, pois apresentou a melhor sensibilidade e especificidade. A sensibilidade encontrada foi de 100% e a especificidade de 99,2%.

Tabela 17- Pacientes com e sem doença segundo a presença de células na fita reagente

Multistix	Com doença	Sem doença
0	0	74
1+	0	37
2+	0	13
3+	11	1

Tabela 18- Valores de sensibilidade e especificidade para valores de células encontrados na fita reagente

Multistix	Sensibilidade %	Especificidade %
0	100	0,0
1+	100	59,2
2+	100	88,8
3+	100	99,2

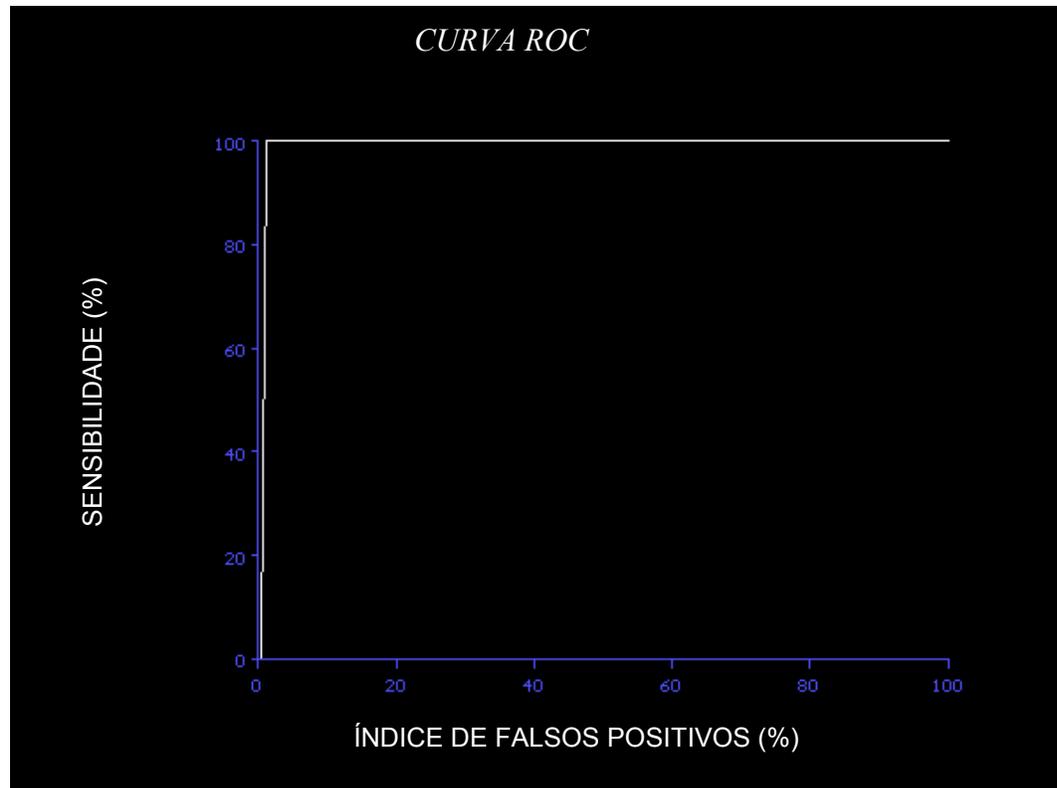


Figura 6- Curva ROC dos valores de células para diagnóstico de Meningite considerando ≥ 100 células

A porção mais à esquerda e superior da curva que corresponde à 3+ de células é o melhor ponto de corte para células quando o objetivo é fazer diagnóstico de meningite pela fita reagente, apresentando uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 99,2%.

Quando mudamos o padrão-ouro no diagnóstico de meningite, ou seja, quando consideramos meningite como sendo cultura positiva de bactéria no líquido, analisamos novamente como se comportou a fita reagente. Em relação às células o melhor ponto de corte pode ser observado na curva abaixo:

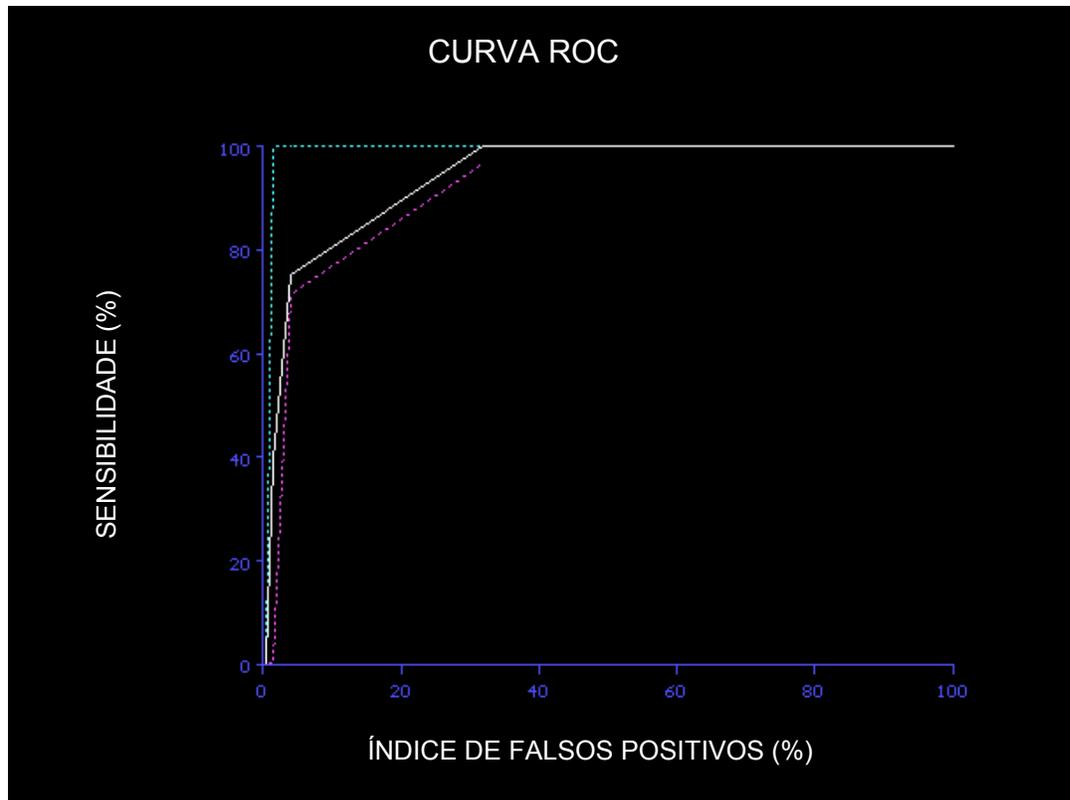


Figura 7- Curva ROC para os valores de células no diagnóstico de Meningite com cultura positiva

A porção mais à esquerda e superior da curva corresponde à 2+ de células que é o melhor ponto de corte para diagnóstico de meningite pela fita reagente, apresentando uma sensibilidade de 75% e uma especificidade de 96,3%.

Quando utilizamos separadamente proteínas ou glicose para diagnóstico de meningite com cultura positiva estas tem pouco ou nenhum valor quando comparado à células, por isso também não pesquisamos o melhor ponto de corte para este diagnóstico.

5- DISCUSSÃO:

A racionalização de recursos na área médica tem sido uma preocupação constante nos discursos relativos à implementação de políticas de saúde. No entanto, apesar da necessidade de redução de custos, a prática clínica cotidiana costuma ser assoberbada por inovações tecnológicas que, utilizadas de forma aleatória, muitas vezes confundem a conduta a ser implementada.

A busca de estratégias diagnósticas, baseadas nas características da população em estudo, tem tomado o lugar de fórmulas universais, muitas vezes caras e ineficazes, se não utilizadas de forma racional.¹¹⁶

Em relação ao diagnóstico diferencial das meningites, observamos que várias são as tentativas para separar os quadros de meningites piogênicas das assépticas e tuberculosas. Moosa e colaboradores, no Kwait, já utilizaram fitas reagentes (Combur 9), usualmente preconizadas para detecção de leucócitos, proteínas e glicose na urina, para o diagnóstico diferencial entre meningites piogênicas e assépticas. Outros autores propuseram a análise da proteína C-reativa no líquido com o objetivo de fazer este

diagnóstico diferencial ⁹³ ou a elevação de citocinas como indicativo de meningite bacteriana aguda.^{117, 118}

A busca de preditores clínicos e de parâmetros líquóricos simples têm sido uma preocupação de vários autores. Rodewal e colaboradores observaram que a celularidade menor de 6 apresenta uma sensibilidade de 98,4%, uma especificidade de 75% e um valor preditivo negativo de 99,9% para excluir meningites piogênicas na cidade de Nova York.¹¹⁹

O teste ideal para definição da etiologia bacteriana da infecção meníngea deveria apresentar sensibilidade próxima a 100% significando que não deixaria de identificar nenhum caso desta doença que, se diagnosticada precocemente, pode ter recuperação e melhor prognóstico evolutivo. Nem mesmo a citobioquímica líquórica (citometria, citologia, glicose e proteínas) identifica todos os casos, devendo ser analisada em conjunto com o quadro clínico-evolutivo e outros exames laboratoriais complementares.¹²⁰

Testes rápidos, que permitam decidir ainda na beira do leito, o início ou não da antibioticoterapia, devem ser estimulados. Este foi o objetivo desta investigação ao estudar o emprego de método extremamente simples de se testar a sua capacidade preditiva. Embora a pesquisa de antígeno seja amplamente divulgada devido a sua alta sensibilidade e de execução rápida, depende de técnica confiável e de recursos não disponíveis em muitos locais.¹²⁰ O emprego de fitas reagentes como procedimento de rotina poderia constituir um método auxiliar útil para a detecção precoce de alterações líquóricas, especialmente em casos de dificuldade de obtenção de volume de líquido

suficiente ou na decisão rápida de uma conduta, como por exemplo, o isolamento de um paciente ou o início da antibioticoterapia.

5.1- Delineamento do estudo

A escolha do delineamento de uma pesquisa baseia-se em uma série de fatores, tais como a frequência e dimensão do evento a ser avaliado, a possibilidade de reproduzi-lo experimentalmente, a capacidade de mensurá-lo, os aspectos morais, éticos legais e financeiros, assim como as facilidades e/ou limitações operacionais. Tendo em mente tais limitações, o pesquisador deverá sempre optar pelo delineamento que lhe dê maior segurança para aceitar ou negar a hipótese que está sendo avaliada em pesquisa.¹²¹

Neste estudo, pretendíamos testar a hipótese de que a fita reagente Multistix® é capaz de detectar alterações de células, proteínas e glicose encontradas no líquido de maneira rápida e segura como os métodos utilizados atualmente. Dentre as opções disponíveis para testar a hipótese, optamos por realizar um estudo transversal, prospectivo, por considerá-lo como o mais adequado e o que melhor atende aos objetivos propostos.

A exemplo de outros estudos, o estudo transversal também pode ser prejudicado e questionado, em razão da presença de erros sistemáticos ou vícios. Estes erros sistemáticos são definidos como distorções incluídas na pesquisa, por falta de cuidado do pesquisador, que afetam as comparações e resultados. Basicamente, os vícios dos trabalhos científicos poderiam ser agrupados em três grandes grupos.^{121,122,123}

(a) vício de seleção - ocorre por problemas de recrutamento, quer seja por critérios de seleção inadequados, ou por perda exagerada de indivíduos. Para evitar tais vícios, é recomendável que se adotem critérios de inclusão e exclusão rígidos e bem definidos. Porém, na tentativa de incorrer nesse erro, o pesquisador acaba se defrontando com um novo impasse: o dilema do tamanho da amostra versus o seu poder estatístico. Ao adotar critérios de seleção extremamente rígidos, pode ocorrer o risco de obter uma amostra muito pequena, não representativa da população e sem um poder estatístico capaz de demonstrar o efeito desejado.

No presente estudo, optamos por trabalhar com uma amostra que fosse o mais próximo possível da população e com um número de participantes determinado por um cálculo amostral. Os critérios de inclusão adotados permitiram que nossa amostra apresentasse um número suficiente de casos, composta por indivíduos de diferentes idades, com e sem infecção do sistema nervoso central. Os resultados obtidos puderam ser extrapolados para a população em geral, mesmo sendo a amostra composta por pacientes provenientes unicamente do serviço de Pediatria do Hospital da PUCRS. Portanto, pelos critérios adotados, a pesquisa não incorreu em vício de seleção.

(b) vício de aferição- ocorre quando a coleta de informações é realizada de forma inadequada por má-definição, limitação técnica ou intervenção (voluntária ou involuntária). Este vício de aferição é particularmente comum quando a forma de avaliação é realizada utilizando medidas não exatas, arbitradas de forma subjetiva e especialmente e, se o investigador ou o paciente tem conhecimento da intervenção no momento da avaliação.

Em nosso estudo, mesmo considerando-se que o resultado em estudo é dependente da interpretação do observador, esta avaliação foi realizada de forma independente (“cegação”), pois o pesquisador não tinha conhecimento do resultado laboratorial (“padrão ouro” ou “desfecho”). Um outro fator que poderia representar algum fator de confusão neste estudo seria a existência de vários profissionais realizando o mesmo teste, pois, a fita reagente apresenta uma variação e subjetividade da coloração que pode interferir na interpretação dos resultados, sendo necessário o treinamento dos responsáveis pela leitura. Assim, na tentativa de manter a uniformidade na interpretação dos resultados os autores optaram por apenas um investigador para realizar esta mensuração.

(c) vício de confusão - ocorre quando fatores externos podem explicar, em parte ou totalmente, a relação entre o fator em estudo e o desfecho. Isto se aplica particularmente em estudos longitudinais ou quando o intervalo entre a intervenção e o desfecho é muito longo, ou ainda, quando coexistem outras intervenções não pareadas. No nosso estudo a probabilidade que isto tenha acontecido é muito remota ou, nula, pois se trata de um teste rápido realizado no instante da coleta do material.

5.2- Amostra submetida ao estudo

Atendendo aos objetivos de nossa pesquisa, definimos como população do estudo: crianças e adolescentes de 0 à 18 anos que foram submetidas ao exame de punção lombar, internadas ou atendidas no serviço de Pediatria do Hospital São Lucas da PUCRS. Dentre a amplitude desta amostra, podemos encontrar recém-nascidos,

lactentes, pré-escolares, escolares e adolescentes. Diferentes patologias fazem parte da amostra: crianças com suspeita de meningite, crianças que se submetem ao exame para alívio de pressão intracraniana, crianças que vão realizar procedimentos, como por exemplo, a quimioterapia intra-tecal, crianças com doença grave na qual o exame de punção lombar faz parte do protocolo de investigação diagnóstica.

Em função de este serviço receber pacientes referidos de outros locais e uma parcela destes acometidos por doenças mais graves, o procedimento de punção lombar é realizado com uma maior frequência quando comparado a serviços não terciários. A indicação e a realização do exame de punção lombar foi uma atribuição exclusiva do chefe de plantão da emergência do dia, sem a participação da autora do trabalho na indicação ou realização do exame, o que confere isenção na seleção de candidatos. A autora do trabalho foi solicitada somente para o acompanhamento do exame cada vez que este procedimento fosse realizado, sendo cega para a patologia clínica do paciente e para o resultado laboratorial do líquido.

Sabendo-se que existe uma média de 8 à 9 amostras de líquido coletadas por semana no hospital da PUCRS, durante o período diurno, cerca de 130 à 180 amostras seriam obtidas durante o período de um ano das 8 às 18 horas de segunda à sexta feira. Considerando-se uma perda aceitável de até 20% obtém-se um volume ao redor de 100 à 150 amostras para serem alvo do presente estudo, que foi considerado um número suficiente para comparação de resultados.

Avaliou-se, então, a acurácia da fita reagente em determinar as alterações de proteínas, leucócitos e glicose no líquido, calculando-se a sensibilidade e a especificidade de cada reagente da fita Multistix®. Para realizar este cálculo, esperou-se que a amostra

fosse composta de um número razoável de pacientes doentes (meningite) e sadios (desfecho positivo e negativo).

Estimou-se que o número de amostras de líquido alteradas fosse maior do que a população em geral, pois estas foram coletadas em hospital terciário, de referência para patologias de mais alta complexidade. Baseado em avaliações internas, o diagnóstico de meningite realizado no laboratório do Hospital da PUCRS corresponde à aproximadamente 20% das amostras enviadas ao laboratório, ou 30 casos para cada 150 amostras coletadas.

No presente estudo, foram obtidas 39 amostras com uma celularidade superior a 100 células no líquido, e 97 amostras com número de células inferior a 100. Trinta e nove amostras alteradas correspondem à 29% do número total. Este número corresponde à uma parcela significativa da população com desfecho positivo (meningite), com poder estatístico suficiente para calcular sensibilidade e especificidade.

5.3- Resultados da fita reagente

5.3.1- Leucócitos

Inicialmente, foi estabelecido pela autora do trabalho, um ponto de corte para análise do líquido cefalorraquidiano de 10 células, para classificar as amostras em alteradas e não alteradas. Este ponto de corte foi baseado na média do número de células

encontradas em amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes normais entre 1 mês à 18 anos de idade.⁷²

Utilizando o ponto de corte de 10 células, avaliou-se a acurácia da fita reagente em detectar anormalidades no líquido, verificando uma baixa sensibilidade em detectar alteração líquórica, de apenas 48%. Frente a estes resultados, somos obrigados por concluir que a fita tem pouca utilidade se utilizada com o intuito de detectar alterações mínimas na celularidade líquórica, não sendo útil como teste de triagem nesta situação.

A baixa sensibilidade da fita em detectar pleocitose líquórica a partir de 10 células ocorre provavelmente devido à menor quantidade de soluto que entrará em contato com um reagente específico da fita modificando a tonalidade de cores dos reagentes.^{125,126}

É sabido que a fita Multistix® apresenta a capacidade de detectar cerca de 5 à 15 células em amostras de urina, segundo fabricante do produto, e este número pode variar dependendo da variabilidade dos componentes da amostra em estudo.^{126,127} Por isso que uma amostra de líquido mais diluída, com um pequeno número de células, como são as 10 células analisadas na pesquisa não apresenta uma reação boa na fita reagente.

Alguns autores, em estudos que procuram encontrar a sensibilidade de fitas reagentes em detectar células na urina, encontram bons resultados, com sensibilidades próximas à 100%, outros não.^{124, 125} Estes achados de alta sensibilidade estão sempre relacionados com amostras que apresentam número de leucócitos superior à 100.000 colônias por campo nas amostras.¹²⁶ Quando o número é inferior à 100.000 células ou a amostra é proveniente de pacientes assintomáticos com baixo número de células, a

sensibilidade da fita reduz, não servindo como teste de screening na detecção de infecção. Esta seria a explicação para a baixa positividade na detecção de poucas células no líquido de crianças observada em nosso estudo, mimetizando os resultados observados nos testes urinários.

Por outro lado quando adotamos um ponto de corte de 100 células para definir meningite, a fita reagente elevou a sua sensibilidade para 78% mantendo uma especificidade de 96% e um alto VPP e VPN. Estes valores conferem um bom poder de triagem da fita reagente em detectar meningite quando esta é conceituada como tendo uma celularidade maior que 100 células.

Portanto, quanto menor o número de células no líquido, menor o poder diagnóstico da fita. A capacidade da fita reagente em detectar alterações líquóricas aumenta à medida que aumenta a pleocitose no líquido. Além disso, 100 células correspondem ao melhor ponto de corte da mesma, com a maior sensibilidade e especificidade, como pode ser observado através da análise da curva ROC apresentada neste estudo.

Ao analisarmos a curva ROC, observamos que a fita reagente apresenta um excelente ponto de corte para células quando o objetivo é fazer diagnóstico de meningite. O ponto de corte de 3+ corresponde à sensibilidade de 100% e especificidade de 99,2%. Todos os pacientes com mais de 100 células são detectados pela fita reagente por 3+ de células no líquido. Além disso todos os 11 pacientes com meningite bacteriana confirmada por cultura positiva de bactéria no líquido, apresentam 3+ de células na fita reagente.

Portanto, quando realizarmos o exame de punção lombar em um paciente e este apresentar 3+ de células no líquido, segundo análise com a fita reagente, isto significa que o diagnóstico de meningite é presente em 99,2% dos casos e que muito provavelmente a etiologia seja ocasionada por bactérias.

A análise destes resultados nos leva a considerar que: (a) a fita reagente não é útil para diagnosticar todas as “potenciais meningites”, uma vez que a sensibilidade em detectar amostras com mais de 10 células é menor que 50%. Ou seja, a fita reagente tem dificuldade em diagnosticar os casos iniciais de meningite, já que estas vão apresentar celularidade baixa no início da apresentação clínica; (b) em torno de 80% dos pacientes com mais de 100 células no líquido foram diagnosticados rapidamente pela fita reagente. Ou seja, utilizando apenas a reação da estearase leucocitária da fita, pode-se diagnosticar no momento da retirada do líquido a absoluta maioria de pacientes com diagnóstico de meningite. (c) mesmo apresentando esta alta taxa de sensibilidade e especificidade, a avaliação laboratorial confirmatória ainda se faz necessária, pois trata-se de investigação de uma doença de alta gravidade como é a meningite e valores próximos de 20% de falsos negativos tem alta relevância clínica.

A utilização destes resultados na prática médica confere na capacidade de diagnosticar meningite em 80% dos casos, através da utilização de apenas um reagente da fita em teste. Em apenas dois minutos da realização do teste é possível saber quais os pacientes apresentam diagnóstico de meningite e, portanto, quais devem ser as medidas terapêuticas adequadas para o paciente, reduzindo com isso, a morbimortalidade da doença. A utilidade deste teste é principalmente pela rapidez que se aplica a ele e pela pequena quantidade de líquido que requer, apenas uma gota.

Dados semelhantes já foram encontrados por outros autores que estudaram o uso de fitas reagentes para o diagnóstico de meningite. Moosa e colaboradores encontraram uma sensibilidade de 97% ao utilizar em conjunto os leucócitos, proteínas e glicose da fita para a pesquisa deste diagnóstico.¹⁰⁵

Molyneux e colaboradores analisaram 257 amostras de líquido em crianças, comparando os achados do Multistix® com o padrão ouro (bioquímica, gram e cultural). Quando o líquido se encontrava-se turvo a especificidade e sensibilidade no diagnóstico de meningite bacteriana foi de 100%, porém quando o líquido apresentava aspecto claro, incolor, a sensibilidade e a especificidade do Multistix® para o diagnóstico de meningite bacteriana foi de 33% e 83%, respectivamente.¹⁰⁶

Os achados acima conferem com o que já foi verificado anteriormente, onde a sensibilidade da fita reagente aumenta a medida que aumenta a pleocitose do líquido. Um líquido turvo apresentará número de células superior em relação a um líquido límpido, pois, o número de células é de pelo menos 500 para turvar a amostra, por que a sensibilidade do teste Multistix® é maior. As amostras límpidas poderiam apresentar um número de células bastante baixo e isso explicar a baixa sensibilidade da fita. Neste estudo, o autor não refere a média do número de células encontrada em cada grupo, no de baixa sensibilidade e no de alta sensibilidade, por isso não é possível estabelecer um ponto de corte referente ao número de células para as amostras límpidas e as turvas.

Recentemente, um grupo de pesquisadores em Belo Horizonte realizou estudos semelhantes, utilizando fitas reagentes com o objetivo de determinar a utilidade destas no diagnóstico rápido de meningite bacteriana em crianças. Os autores concluíram que não houve discordância entre os dois métodos (laboratório e fita

reagente) no diagnóstico de meningite, reafirmando a utilidade destas fitas como um recurso auxiliar no diagnóstico das infecções meningéas.¹¹⁹ Embora os autores não apresentassem a sensibilidade e especificidade do método em pesquisa, foi possível realizar este cálculo através dos dados descritos no trabalho. Eles obtiveram uma sensibilidade de 90% com o método e uma especificidade de 98%, o que confere os melhores resultados já encontrados com a utilização da fitas reagentes para a pesquisa de alterações líquóricas compatíveis com meningite. Estes resultados são possíveis provavelmente pelo alto número de amostras com diagnóstico de meningite bacteriana encontradas no estudo e, conseqüentemente, com pleocitose aumentada. Das 154 amostras analisadas, 43 delas apresentaram diagnóstico de meningite bacteriana confirmadas por cultura positiva de líquido, além de 19 viróticas e 8 com alterações na celularidade do líquido. Em torno de setenta amostras apresentaram cerca de 500 células no líquido, conferindo a alta pleocitose encontrada em 45% delas.

5.3.2- Proteínas

Quando analisamos a acurácia da fita reagente em detectar proteínas no líquido, adotamos um ponto de corte de 45mg/dl para classificar as amostras em normais e alteradas, segundo a análise laboratorial. A fita apresentou uma sensibilidade de 80% na detecção de alteração protéica no líquido e uma especificidade de 81%.

Isso significa que em torno de 80% dos pacientes com mais de 45 proteínas no líquido são diagnosticados rapidamente pela fita reagente. Ou seja, utilizando apenas a

reação do azul de tetrabromofenol da fita, pode-se detectar no momento da retirada do líquido a absoluta maioria de pacientes com proteínas elevadas.

É sabido, pelo fabricante do produto, que a fita reagente Multistix® tem a capacidade de detectar em torno de 30 à 45mg/dl de proteínas na urina e que a albumina é a proteína mais sensível à área reativa da fita, por isso a detecção de quantidades de proteínas na líquor semelhantes àsquelas encontradas na urina conferem bons resultados de sensibilidade e especificidade à fita reagente.

A utilização destes resultados na prática médica é a capacidade de detectar proteínas elevadas no líquor em 80% dos casos, através da utilização de apenas um reagente da fita em teste. Em apenas um minuto da realização do teste é possível se obter informações que podem ser úteis quando se pesquisa determinadas doenças que podem alterar proteínas no líquor. A utilidade deste teste é principalmente pela rapidez que se aplica a ele e pela pequena quantidade de líquor que requer, apenas uma gota.

Dados semelhantes de boa sensibilidade e especificidade, foram encontrados em estudos realizados por autores que pesquisaram o uso de fitas reagentes na detecção de proteínas em urina de pacientes diabéticos. Amostras de urina com valores maiores ou iguais à 60mg/dl de proteína podem ser detectadas pelas fitas reagentes em 100% das vezes, conferindo um excelente e barato teste de screening.¹²⁷

Em estudos anteriormente citados, o uso de fitas reagentes na detecção de proteínas em amostras de líquor, também demonstraram uma boa sensibilidade do método. Schwartz identificou a acurácia e a utilidade clínica deste método em 1971,

Moosa e colaboradores, determinaram uma sensibilidade de 88,5% na detecção de proteína em 1995. Recentemente este achado foi confirmado por Romanelli em 2001.

Entretanto, para o diagnóstico de meningite em crianças, um dado isolado do aumento de proteínas no líquido não é indicativo de doença e por isso não pode ser utilizado sozinho. O número aumentado de proteínas no líquido está mais relacionado com prognóstico de doença (mortalidade) do que com diagnóstico de meningite, por isso, neste estudo, não foi dada importância a este dado como foram com os leucócitos.⁷⁸

Não é incomum que crianças pré-escolares desenvolvam afecções meníngeas sem alterações de proteínas no líquido, ou que concentrações muito baixas de proteínas no líquido, possam estar presentes em pacientes com aumento da pressão intracraniana.^{123,124}

5.3.3- Glicose

Ao adotarmos um ponto de corte de 50mg/dl, no valor da glicose no líquido, como parâmetro de normalidade, observamos que a sensibilidade da fita reagente para a detecção de glicose no líquido foi de 16%, entretanto a especificidade apresentou-se 100%. O desempenho da fita reagente na detecção de glicose no líquido não foi boa, devido a esta baixa sensibilidade.

A fita Multistix® foi desenvolvida com a capacidade de detectar, segundo o fabricante do produto, cerca de 75 à 125mg/dl de glicose na urina. Valores abaixo de 100mg/dl não são detectáveis, e é por isso que as quantidades de glicose encontradas em

amostras de líquido de pacientes com alterações inflamatórias ou até mesmo de pacientes considerados normais não foram detectados pelo teste em estudo, não apresentando a acurácia desejada.

Este dado isolado de hipoglicorraquia também não foi valorizado em nosso estudo, pois alterações na glicose podem estar ausente em crianças em idade escolar acometida por afecções meníngeas inflamatórias, além de não ser um achado comum nas meningites assépticas.¹²³

6 - CONCLUSÕES

Baseados nos resultados de nosso estudo, podemos concluir que:

- a) a fita reagente apresenta uma boa acurácia para mensurar leucócitos e proteínas no líquido;
 - b) a fita reagente apresenta uma baixa acurácia para mensurar glicose no líquido;
 - c) crianças com diagnóstico de meningite e que apresentam pleocitose moderada à intensa (>100 células), podem ser detectadas em sua grande maioria (80%) através da fita reagente;
 - d) a fita reagente apresenta um baixo poder diagnóstico em crianças em fase inicial de meningite, com pleocitose discreta (<100 células);
 - e) a fita reagente não dispensa a confirmação laboratorial no diagnóstico de meningite em crianças.
-

7 - BIBLIOGRAFIA:

1. Prober CG. Central Nervous System Infections. In: Nelson Textbook of Pediatrics. 16^oed. United States. Saunders; 1996. p.750-5.
 2. Focaccia R. Meningites bacterianas. In: Veronesi R. Tratado de Infectologia. 1^o ed. São Paulo: Atheneu; 1997.p. 805-31.
 3. Bresolin AU. Meningites bacterianas agudas. In: Neurologia Infantil: semiologia, clínica e tratamento. São Paulo: Editora Sarvier; 1980. P.829-62.
 4. Shrier LA. Bacterial and fungal infections of the central nervous system. In: Berg B. Principles of Child Neurology. 1^o ed. San Francisco: International Edition; 1996. P. 749-77.
 5. Feigin RD, Dodge PR. Bacterial meningitis: newer concepts of pathophysiology and neurologic sequelae. *Pediatr Clin North Am* 1976; 23: 541.
-

-
6. Geiseler PJ, Nelson KE, Levin S. Community- acquired purulent meningitis: a review of 1316 cases during the antibiotic era. *Rev Infect Dis* 1980;2: 725.
 7. Gold R. Epidemiology of bacterial meningitis. *Clinics of North America* 1999; 13: 515-20.
 8. Francoisi RA, Knostman JD, Zimmerman RA. Group B estreptococcal neonatal and infant infection. *J Pediatr* 1973; 82: 707.
 9. Fraser DW, Mitchell JE, Silverman LP, et al. Undiagnosed bacterial meningitis in Vermont children. *Annu J Epidemiol* 1975; 102:394.
 10. Dawson K, Emerson JC, Burns J. Fifteen years of experience with bacterial meningitis. *Pediatr Infect Dis* 1999; 18: 816-22.
 11. Bryan JP, Silva HR, Tavares A, et al. Etiologia and mortality of bacterial meningitis in northeastern Brazil. *Ver Infect Dis* 1990; 12: 128-135.
 12. Secretaria Estadual da Saúde do Rio Grande do Sul. I Simpósio Regional Sul e Sudeste Sobre A Vigilância Epidemiológica das Meningites-2001. Rio Grande deo Sul:2001.
 13. Schlech WD, Ward J, Band J, et al. Bacterial meningitis in the United States,1978 through 1981. The National Bacterial Meningitis Surveillance Study. *JAMA* 1985; 253:1749.
-

-
14. Schuchat A, Robison K, Wenger JD, et al. Bacterial meningitis in the United States in 1995. Active Surveillance Team. *N Engl J Med* 1997; 337:970.
 15. Wenger J, Hightower A, Facklam R, et al. Bacterial meningitis in the United States, 1986: Report of a multistate surveillance study. *J Infect Dis* 1990; 162:1316.
 16. McIntyre P. Geographic differences in bacterial meningitis: Less may be as interesting as more. *J Paediatr Child Health* 1998; 34:109.
 17. Stuart J, Cartwright K, Dawson J, et al. Risk factors for meningococcal disease: A case control study in south west England. *Community Medicine* 1998; 10:139.
 18. Fraser D, Geil C, Feldman RA. Bacterial meningitis in Bernalillo County, New Mexico: A comparison with three other American populations. *Am J Epidemiol* 1974; 100:29.
 19. Kremastinou J, Blackwell C, Tzanakaki G, et al. Parental smoking and carriage of *Neisseria meningitidis* among Greek schoolchildren. *Scand J Infect Dis* 1994;26:719.
 20. Stanweell-Smith RE, Stuart J, Hughes A, et al. Smoking, the environment and meningococcal disease: A case control study. *Epidemiol Infect* 1994; 112:315.
-

-
21. Bredfeldt R, Cain S, Schutze G, et al. Relation between passive tobacco smoke exposure and the development of bacterial meningitis in children. *J Am Board Fam Pract* 1995; 8:95.
 22. Thomas J, Bendana N, Waterman S, et al. Risk factors for carriage of meningococcus in the Los Angeles County men's jail system. *Am J Epidemiol* 1991; 133:286.
 23. Jackson LA, Alexander ER, DeBolt CA, et al. Evaluation of the use of mass chemoprophylaxis during a school outbreak of enzyme type 5 serogroup B meningococcal disease. *Pediatr Infect Dis J* 1996; 15:992.
 24. Jackson LA, Schuchat A, Reeves MW, et al. Serogroup C meningococcal outbreaks in the United States. An emerging threat [see comments]. *JAMA* 1995; 273:383.
 25. Racoosin JA, Whitney CG, Conover CS, et al. Serogroup Y meningococcal disease in Chicago, 1991-1997. *JAMA* 1998; 280:2094.
 26. Schuchat A, Robinson K, Wenger JD, et al. Bacterial Meningitis in the United States in 1995. *N Engl J Med* 1997; 337:970.
 27. Ashton F, Ryan J, Borczyk A, et al. Emergence of a virulent clone of *Neisseria meningitidis* serotype 2a that is associated with
-

-
- meningococcal group C disease in Canada. *J Clin Microbiol* 1991; 29:2489.
28. Sammuellsson S, Ege P, Berthelsen L, et al. An outbreak of serogroup B: 15:P1.6 meningococcal disease, Frederiksborg county, Denmark, 1987. *Epidemiol Infect* 1992; 108:19.
29. Advisory Committee on Immunization Practices: Control and prevention of serogroup C meningococcal disease: Evaluation and management of suspected outbreaks: Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997; 46:13.
30. Erickson L, De Wals P. Complications and sequelae of meningococcal disease in Quebec, Canada, 1990-1994. *Clin Infect Dis* 1998; 26:1159.
31. Tuomanen EI, Austrian R, Masure HR. Pathogenesis of pneumococcal infection. *N Engl J Med* 1995; 332:1280.
32. Broome CV, Facklam RR. Epidemiology of clinically significant isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States. *Rev Infect Dis* 1981; 3:277.
33. Gray BM, Dillon HC Jr. Clinical and epidemiologic studies of pneumococcal infection in children. *Pediatr Infect Dis J* 1986; 5:201.
-

-
34. Murphy TV, Clements JF, Breedlove JA, et al. Risk of subsequent disease among day-care contacts of patients with systemic *Haemophilus influenzae* type B disease. *N Engl J Med* 1987;316:5.
 35. Reichler MR, Allphin AA, Breiman RF, et al. The spread of multiply resistant *Streptococcus pneumoniae* at a day care center in Ohio. *J Infect Dis* 1992;166:1346.
 36. Schuchat A. Epidemiology of group B streptococcal disease in the United States: Shifting paradigms. *Clin Microbiol Rev* 1998;11:497.
 37. Arditi M, Mason EO Jr, Bradley JS, et al. Three-year multicenter surveillance of pneumococcal meningitis in children: Clinical characteristics and outcome related to penicillin susceptibility and dexamethasone use. *Pediatrics* 1998;102:538.
 38. Friedland IR, McCracken GH Jr. Management of infections caused by antibiotic-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *N Engl J Med* 1994; 331:377.
 39. Barenkamp SJ, Munson RS Jr, Granoff DM. Subtyping isolates of *Haemophilus influenzae* type b by outer-membrane protein profiles. *J Infect Dis* 1981;143:668.
-

40. Gray BM, Converse GMD, Dillon HC Jr. Epidemiologic studies of *Streptococcus pneumoniae* in infants: Acquisition, carriage, and infection during the first 24 months of life. *J Infect Dis* 1980;142:923.
 41. Osterholm MT, Pierson LM, White KE, et al. The risk of subsequent transmission of *Haemophilus influenzae* type B disease among children in day care. Results of a two-year statewide prospective surveillance and contact survey. *N Engl J Med* 1987; 316:1.
 42. Parke JC Jr, Schneerson R, Robbins JB. The attack rate, age incidence, racial distribution, and case fatality rate of *Haemophilus influenzae* type b meningitis in Mecklenburg County, North Carolina. *J Pediatr* 1972; 81:765.
 43. Sell SH, Merrill RE, Doyne EO, et al. Long-term sequelae of *Haemophilus influenzae* meningitis. *Pediatrics* 1972; 49:206.
 44. Taylor HG, Mills EL, Ciampi A, et al. The sequelae of *Haemophilus influenzae* meningitis in school-age children. *N Engl J Med* 1990; 323:1657.
 45. Adams WG, Deaver KA, Cochi SL, et al. Decline of childhood *Haemophilus influenzae* type b (Hib) disease in the Hib vaccine era. *JAMA* 1993; 269:221.
-

-
46. Murphy TV, White KE, Pastor P, et al. Declining incidence of Haemophilus influenzae type b disease since introduction of vaccination. JAMA 1993; 269:246.
 47. Robbins JB, Schneerson R. Evaluating the Haemophilus influenzae type b conjugate vaccine PRP-D. N Engl J Med 1990;323:1415.
 48. Adams RD, Kubik CS, Bonner FJ. The clinical and pathological aspects of influenzal meningitis. Arch Pediatr 1948; 65:354.
 49. Leib SL, Kim YS, Black SM, et al. Inducible nitric oxide synthase and the effect of aminoguanidine in experimental neonatal meningitis. J Infect Dis 1998; 177:692.
 50. Djeric DR, Schachern PA, Paparella MM et al. Otite media (silent): a potential cause of childhood meningitis. Laryngoscope 1994;12: 1453-60.
 51. Leib SL, Tauber MG. Pathogenesis of bacterial meningitis. Clinics of North America 1999; 13:3.
 52. Smith AL. Pathogenesis of Haemophilus influenzae meningitis. Pediatr Infect Dis J.1997; 6: 783-786.
 53. Kim KS, Itabashi H, Genski P, et al. The K1 capsule is critical determinant in the development of E. coli meningitis in the rat. J Clin Invest 1992; 90: 897-905.
-

54. Vogel U, Hammerschmidt S, Frosch M. Sialic acids of both the capsule and the sialylated lipooligosaccharide of *Neisseria meningitidis* serogroup B are prerequisites for virulence of meningococci in infant rat. *Med Microbiol Immunol* 1996;185:81.
55. Tunkel AR, Scheld WM. Pathogenesis and pathophysiology of bacterial meningitis. *Clin Microbiol Rev* 1993; 6: 118-136.
56. Stins MF, Prasadarao NV, Ibric L, et al. Binding characteristics of S fimbriated *Escherichia coli* to isolated brain microvascular endothelial cell. *Am J Pathol* 1994;145:1228.
57. Quagliarello VJ, Wispelwey B, Long WJ Jr, et al. Recombinant human interleukin-1 induce meningitis and blood-brain barrier injury in the rat: Characterization and comparison with tumor necrosis factor. *J Clin Invest* 1991; 87: 1360.
58. Waage A, Halstensen A, Shalaby R. Local production of tumor necrosis factor, interleukin-1, and interleukin-6 in meningococcal meningitis. *J Exp Med* 1998;170: 1859.
59. Benveniste EN, Tang LP, Law RM. Differential regulation of astrocyte TNF-alpha expression by the cytokines TGF-beta, IL-6 and IL-10. *Int J Dev Neurosci* 1995; 13: 341.
-

-
60. Paris MM, Hickey SM, Trujillo M, et al. The effect of interleukin-10 on meningeal inflammation in experimental bacterial meningitis. *J Infect Dis* 1997; 176: 1239.
61. Buster BL, Weuntrob AC, Townsend GC, et al. Potential role of nitric oxide in the pathophysiology of experimental bacterial meningitis in rats. *Infect Immun* 1995; 63:3835.
62. Paul R, Lorenzl S, Koedel U, et al. Involvement of matrix metalloproteinases (MMP) in the disruption of blood-brain-barrier in bacterial meningitis. In *Programs and Abstracts of the 37 th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, Toronto, Canadá, 1997, p 38.
63. Rosenberg GA, Navratil M, Barone F, et al. Proteolytic cascade enzymes increase in focal cerebral ischemia in rat. *J Cereb Blood Flow Metab* 1996;16: 360.
64. Sporer B, Paul R, Koedel U, et al. Presence of matrix metalloproteinase-9 activity in the cerebrospinal fluid of human immunodeficiency virus-infected patients. *J Infect Dis* 1998;178:854.
65. Gottschall PE, Krajewski S, Rafalowska J. Tumor necrosis factor- α induced pathology in the rat brain: Characterization of stereotaxic injection model. *Folia Neuropathol* 1998;36:52.
-

66. Leib SL, Leppert D, Tauber MG. In experimental pneumococcal meningitis upregulation of tumor necrosis factor-alpha and activity of matrix metalloproteinase-9 in CSF are interdependent events. *Schweiz Med Wochenschr* 1998; 128:10.
67. Baraff LJ, Lee SI, Schriger DL. Outcomes of bacterial meningitis in children: A meta-analysis. *Pediatr Infect Dis J* 1993; 20: 389.
68. Salih MA, Khaleefa OH, Bushara M, et al. Long term sequelae of childhood acute bacterial meningitis in a developing country. A study from the Sudan. *Scand J Infect Dis* 1991; 10:117.
69. Carrol KL, Carrol C. A prospective investigation of long-term auditory-neurological sequelae associated with bacterial meningitis: A study from Vanuatu. *J Tropical Medicine and Hygiene* 1994; 97: 145.
70. Grimwood K, Anderson VA, Bond L, et al. Adverse outcomes of bacterial meningitis in school-age survivors. *Pediatrics* 1995; 95:646.
71. Free SL, Li LM, Fish DR, et al. Bilateral hippocampal volume loss in patients with a history of encephalitis or meningitis. *Epilepsia* 1996; 37:400.
72. Bonadio W. The cerebrospinal fluid: physiologic aspects and alterations associated with bacterial meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 1992; 11: 423-32.
-

73. Davson H, Welch K, Segal M. Physiology and pathophysiology of the cerebrospinal fluid. Edinburgh: Churchill Livingstone, 1987.
74. Fishman R. Cerebrospinal fluid in disease of the nervous system. Philadelphia: Saunders, 1980.
75. Merritt H, Fremont-Smith F. The cerebrospinal fluid. Philadelphia: Saunders, 1937.
76. Lindvall M, Edvinsson L, Owman C. Histochemical, ultrastructural, and functional evidence for a neurogenic control of CSF production of CSF production from the choroid plexus. *Adv Neurol* 1978; 20:111.
77. Kornelisse RF, Westerbeek CML, Spoor AB, et al. Pneumococcal meningitis in children: Prognostic indicators and outcome. *Clin Infect Dis* 1995; 21:1390.
78. Malley R, Inkelis SH, Coelho P, et al. Cerebrospinal fluid pleocytosis and prognosis in invasive meningococcal disease in children. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17:855.
79. Marks W, Stutman H, Marks M, et al. Cefuroxime versus ampicillin plus chloramphenicol in childhood bacterial meningitis: a multicenter randomized controlled trial. *J Pediatr* 1986; 109:123.
-

80. Schaad U, Suter S, Gianella A, et al. A comparison of ceftriaxone and cefuroxime for the treatment of bacterial meningitis in children. *N Engl J Med* 1990; 322: 141.
81. Bonadio WA. Bacterial meningitis in older children. *Am J Dis* 1990; 144:463.
82. Dunbar SA, Eason RA, Musher DM, et al. Microscopic examination and broth culture of cerebrospinal fluid in diagnosis of meningitis. *J Clin Microbiol* 1998; 36:1617.
83. Thomson RB, Bertram H. Laboratory diagnosis of central nervous system infections. *Infectious Disease Clinics of North America* 2001; 15: 4.
84. Coant PN, Kornberg AE, Duffy LC, et al. Blood culture results as determinants in the organism identification of bacterial meningitis. *Pediatr Emerg Care* 1992;8:200.
85. Kline JO, Feigin RD, McCracken GH Jr, et al. Task force report on diagnosis and management of meningitis. *Pediatrics* 1986; 78:959.
86. Atkinson PJ, Sharland M, Maguire H. Predominant enteroviral serotypes causing meningitis. *Arch Dis Child* 1998; 78:373.
87. Gorgievski-Hrisoho M, Schumacher JD, Vilimonovic N, et al. Detection by PCR of enteroviruses in cerebrospinal fluid during a
-

-
- summer outbreak of aseptic meningitis in Switzerland. *J Clin Microbiol* 1998; 36:2408.
88. Kenneth F.S. Pediatric Neurology Principles and Practice. In: Snyder R.D. Bacterial Infections of the Nervous System. St Louis: Mosby; 1989. p.447-70.
89. Bell W, Mc Cormick. Neurologic Infections in Children 2^oed. Philadelphia: Saunder Company; 1981. p. 3, 77, 105, 134, 155, 176.
90. Carvalho MA, Livramento JÁ, França AS. Provas de aglutinação do látex no líquido cefalorraqueano em meningites bacterianas. *Arq Neuro-Psiquiat* 1988; 46:365-368.
91. Nakamura A, Kuroki H, Ohshima H, et al. Clinical analysis of patients with bacterial meningitis in childhood and reevaluation of rapid antigen detection methods. *Kansenshogaku Zasshi. Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases* 1999; 73(9): 901-8.
92. Mein J. CSF bacterial antigen detection tests offer no advantage over Gram's stain in the diagnosis of bacterial meningitis. *Pathology* 1999; 31: 67-9.
93. Leite RD, Ribeiro MA, Farhat CK. C-reactive Protein Follow-up of Children With Acute Bacterial Meningitis. *The Brazillian Journal of Infections Diseases* 1999; 3:15-22.
-

-
94. Garty B-Z, Berliner S, Liberman E, et al. Cerebrospinal fluid leukocyte aggregation in meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 1997;16:647.
 95. Michelow IA, Tiemessen C, Chezzi C, et al. Value of cerebrospinal fluid leukocyte aggregation in distinguishing the causes of meningitis in children. *Pediatr Infect Dis* 2000; 19:66-72.
 96. Pauwels A, Pines E, Abboura M, et al. Bacterial meningitis in cirrhosis: Review of 16 cases. *J Hepatol* 1997; 27:830.
 97. Plessis M, Smith AM, Klugman KP. Rapid detection of penicillin-resistant *Streptococcus pneumoniae* in cerebrospinal fluid by a seminested-PCR strategy. *J Clin Microbiol* 1998; 36:453.
 98. Rotbart H. Diagnosis of enteroviral meningitis with the polymerase chain reaction. *J Pediatr* 1990;17:85.
 99. Schlesinger Y, Sawyer MH, Storch GA. Enteroviral meningitis in infancy: Potential role for polymerase chain reaction in patient management. *Pediatrics* 1994; 94:157
 100. Read S, Jeffery K, Bangham CRM. Aseptic Meningitis and Encephalitis: the role of PCR in the diagnostic laboratory. *Journal of Clinical Microbiology* 1997; 35:691-96.
-

-
101. Jeffery KJM, Read SJ, Peto TEA, et al. Diagnosis of viral infection of the central nervous system: clinical interpretation of PCR results. *Lancet* 1997; 349:313-17.
 102. Hamilton MS, Jackson MA, Abel AD. Clinical utility of polymerase chain reaction testing for enteroviral meningitis. *Pediatr Infect Dis* 1999; 18:533-8.
 103. Schwartz RP, Parke JC. Rapid screening test for protein and glucose in cerebrospinal fluid. *The Journal of Pediatrics* 1971; 78:677-80.
 104. Moosa A, Quartum H, Ibranim M. Rapid diagnosis of bacterial meningitis with reagent strips. *The Lancet* 1995; 345:1290-1.
 105. Molyneux E, Walsh A. Caution in the use of reagent strips to diagnose acute bacterial meningitis. *Lancet* 1996; 12: 766-8.
 106. Heckmann J, Engelhart A. Urine test strips for cerebrospinal fluid diagnosis of bacterial meningitis. *Med Klin* 1996; 12: 766-8.
 107. Bonev V, Gledhill R. Use of reagent strips to diagnose bacterial meningitis. *The Lancet* 1997; 349:287.
 108. Henry J B. *Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais*. 18ª Edição. São Paulo: Manole, 1999.
 109. Tietz A. *Fundamentos de Química Clínica*. 4ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998.
-

110. Ravel R. Aplicações Clínicas dos Dados Laboratoriais. 6ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara, 1997.
 111. Strasinger SK. Uroanálise e Fluidos Biológicos. 3ª Edição. São Paulo: Guanabara, 2000.
 112. Rodak B. Diagnostic Hematology. Philadelphia: Saunders Company, 1995.
 113. Sackett D. L, Haynes R.B, Guyatt GH, et al. Clinical Epidemiology. 2nd edition. Toronto: Little, Brown and Company. 1991. 441p
 114. Flether R H. Epidemiologia Clínica: Elementos Essenciais. 3ª Edição. Porto Alegre: Artes Médicas ,1996.
 115. Lucena R, Gomes I, Mello A. Variáveis Clínicas e Laboratoriais para o diagnóstico diferencial entre meningites asséptica e piogênica em crianças. Arq Neuropsiquiatr 1997; 55: 588-93.
 116. Lopes-Cortes LF, Marquez-Arbizu R, Jimenes-Jimenes, et al. Cerebrospinal fluid tumor necrosis factor-alpha, interleukin-1 beta, interleukin-6, and interleukin-8 as diagnostic markers of cerebrospinal fluid infection in neurosurgical patients. Neurologic Critical Care 2000; 28: 215-19.
-

117. Schwars S, Bertram M, Schwab S, et al. Serum procalcitonon levels in bacterial and abacterial meningitis. *Critical Care Medicine* 2000; 28: 1828-32.
118. Rodewald LE, Woodlin KA, Szilagy PG, et al. Relevance of common tests of cerebrospinal fluid screening for bacterial meningitis. *J Pediatr* 1991; 119: 363-369.
119. Romanelli R.B, Thome E.E, Duarte F.M.C, et al. Diagnóstico de Meningite Bacteriana através de Fitas Reagentes. *J Pediatr* 2001; 3: 203.
120. Zunt J.R, Marra C.M. Cerebrospinal fluid testing for the diagnosis of Central Nervous System Infection. *Neurologic Clinics* 1999; 17: 675-85.
121. Wagner, M. Aspectos básicos da medicina baseada em evidências. *J. Pediatr* 1998; 74:419-22.
122. Comitê Internacional de Editores de Revistas Médicas. Requisitos uniformes para originais submetidos a revistas biomédicas. *J. Pediatr (Rio J)*, v.73, p.213-224, 1997.
123. Evidence-based medicine working group. A new approach to teaching the practice of medicine. *JAMA* 1992; 268:2420-25.
-

124. Eidelman Y, Raveh D, Yinnon M. Reagent strip diagnosis of UTI in a high-risk population. *American Journal of Emergency Medicine* 2002; 20: 2.
125. Waisman Y. The validity of the uriscreen test for early detection of urinary tract infection in children. *Pediatrics* 1999; 104: 41.
126. Semeniuk H, Church D. Evaluation of the Leukocyte Esterase and Nitrite Urine Dipstick Screening Tests for Detection of Bacteriuria in Women With Suspected Uncomplicated Urinary Tract Infections. *J Clin Microbiol* 1999; 37:3051-3052.
127. Soonthornpun S, Thammakumpee N, Thamprasit A, et al. The utility of conventional dipsticks for urinary protein for screening of microalbuminuria in diabetic patients. *J Med Assoc Thai* 2000; 83: 797-803.
128. Wood J. *Neurobiology of the cerebrospinal fluid*. New York: Plenum; 1983.p.1-17.
-

ANEXO

Anexo 1

Protocolo de trabalho:

Nome:

Sexo:

Idade:

Registro:

Motivo da punção:

Multistix

Proteínas:

Leucócitos:

Glicose:

Eritrócitos:

Laboratório

Proteínas:

Leucócitos:

Glicose:

Eritrócitos:

Cultura:
